

In-vitro-Suppression von *Enterococcus faecalis* in den Dentintubuli mit Chloramin-T

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Franziska Maria Bräutigam
geboren am 23.10.1989 in Jena

Gutachter:

1. Univ.-Prof. Dr. Dr. Bernd W. Sigusch, Jena
2. Prof. em. Dr. med. dent. habil. Eike Glockmann, Jena
3. Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Holger Jentsch, Leipzig

Tag der öffentlichen Verteidigung: 08.05.2018

Abkürzungsverzeichnis

ATCC	American Type Culture Collection
Chloramin-T	Tosylchloramid-Natrium
CHX	Chlorhexidin
<i>E. faecalis</i>	Enterococcus faecalis
KBE/ml	koloniebildende Einheiten pro Milliliter
NaCl	Natriumchlorid
NaOCl	Natriumhypochlorit

Inhaltsverzeichnis	Seite
Abkürzungsverzeichnis.....	3
1 Zusammenfassung	5
2 Einleitung	7
2.1 Einführung und mikrobiologische Aspekte der endodontischen Therapie	7
2.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	10
2.3 Medikamente des Wurzelkanals.....	12
2.4 Chloramin-T	15
3 Zielstellung	17
4 Material und Methoden	18
4.1 Verwendeter Bakterienstamm	18
4.2 Vorbereitung der Zähne.....	18
4.3 Inokulation des Wurzelkanalsystems mit <i>E. faecalis</i>	19
4.4 Antibakterielle Behandlung des Wurzelkanalsystems	19
4.5 Bestimmung der Baseline-Infektion und mikrobiologische Analyse der Dentinspäne	22
4.6 Statistische Analyse	25
5 Ergebnisse	26
6 Diskussion	34
7 Schlussfolgerungen	42
8 Referenzen	44
9 Anhang.....	52
Danksagung	57
Ehrenwörtliche Erklärung	58
Lebenslauf.....	59

1 Zusammenfassung

Bei der endodontischen Behandlung soll mittels Kombination der mechanischen und chemischen Aufbereitung infizierter Wurzelkanäle eine Persistenz der endodontischen Infektion verhindert und damit ein Langzeiterfolg der Wurzelkanalbehandlung erreicht werden.

Wird trotz einer lege artis durchgeführten endodontischen Therapie ein refraktärer Verlauf diagnostiziert, so ist davon auszugehen, dass der Wurzelkanal mit problematischen Mikroorganismen infiziert ist.

Um die bakterielle Infektion zu behandeln, kommen verschiedene Wurzelkanalspülungen zum Einsatz. Mit den konventionellen Spülflüssigkeiten und medikamentösen Einlagen kann jedoch häufig keine vollständige Suppression der Bakterien erzielt werden.

Als besonders robust gegenüber den chemo-mechanischen Therapieoptionen gilt die Spezies *Enterococcus faecalis*. Ein wesentlicher pathogenetischer Faktor von *E. faecalis* ist die Eigenschaft, die Dentintubuli besiedeln zu können.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die antimikrobielle Effektivität des Desinfiziens Chloramin-T gegen *E. faecalis* in den Dentintubuli in vitro zu evaluieren.

Für die vorliegende Studie wurden 50 extrahierte humane dritte Molaren vorbereitet, autoklaviert und anschließend mit einer *E. faecalis*-Suspension inokuliert und für 48 Stunden inkubiert. Anschließend erfolgte eine randomisierte Verteilung der beimpften Zähne in 5 Versuchsgruppen.

In den beiden Testgruppen wurden zwei verschiedene Applikationsmengen von Chloramin-T verwendet. In Testgruppe 1 erfolgte eine Auffüllung des Wurzelkanals mit Chloramin-T (durchschnittlich 7 mg), während in Testgruppe 2 die Chloraminkristalle an einer zuvor befeuchteten Papierspitze anhaftend eingebracht wurden (durchschnittlich 1,3 mg). Die Zähne der Kontrollgruppen wurden mit konventionellen intrakanalären Medikamenten behandelt. In Kontrollgruppe 1 (positive Kontrolle) erfolgte eine medikamentöse Einlage der Infizierten Wurzelkanäle mit Kalziumhydroxid, in Kontrollgruppe 2 (positive Kontrolle) eine Spülung mit Natriumhypochlorit und in Kontrollgruppe 3 wurde NaCl (Negativkontrolle) zur Irrigation verwendet.

Vor dem Einbringen der antibakteriellen Einlagen erfolgte eine Kontrolle des Infektionsstatus. Nach 24 Stunden anaerober Inkubation konnten die KBE/ml ermittelt und so die Baseline-Infektion bestimmt werden.

Nach der Behandlung mit den jeweiligen intrakanalären Medikamenten wurde jeweils eine erste Probe mittels steriler Papierspitzen von der Wurzelkanalwand entnommen. Um die antibakterielle Wirkung der Medikamente in den tieferen Schichten der Dentintubuli zu untersuchen, erfolgte eine schrittweise manuelle Aufbereitung mit Reamern aufsteigender ISO-Größen von ISO 50 bis ISO 110, mit einem Dentinwand-Abtrag von ca. 50 µm zur jeweils nächsten ISO-Größe. Die abgetragenen Dentinspäne und die verwendete Feile wurden in ein Reaktionsgefäß überführt. Im Anschluss erfolgte die Resuspension der Proben in 1 ml Natriumchloridlösung sowie die Anfertigung dekadischer Verdünnungsreihen bis 10^{-6} .

Die Ergebnisse zeigen, dass *E. faecalis* bei entsprechendem Versuchsaufbau bis zu 300 µm tief in die Dentintubuli eindringen kann.

In beiden Testgruppen konnte durch Chloramin-T an der Wurzelkanalwand eine signifikante Bakterienreduktion erreicht werden.

Nur die komplette Füllung der Wurzelkanäle mit Chloramin-T (Testgruppe 1) führte zu einer vollständigen Suppression von *E. faecalis* und damit zu einer signifikanten antibakteriellen Wirkung in allen untersuchten Dentintiefen bis 300 µm.

Die Spülung der Wurzelkanäle mit Natriumhypochlorit (Kontrollgruppe 2) ergab lediglich an der Wurzelkanalwand eine vollständige Suppression von *E. faecalis*, jedoch ohne die mit der Testgruppe 1 vergleichbare Tiefenwirkung zu erzielen.

Im Vergleich zur Negativ-Kontrollgruppe mit NaCl ergab sich für die Kontrollgruppe 1 mit Kalziumhydroxid nur an der Wurzelkanalwand eine signifikant höhere Reduktion der Mikroorganismen, auch hier mit deutlich verringerter Tiefenwirkung im Vergleich zur Testgruppe 1.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass nur durch die Applikation von Chloramin-T die Spezies *E. faecalis* im Wurzelkanalsystem sowie den Dentintubuli vollständig supprimierbar war.

Die Anwendung von Chloramin-T könnte bei entsprechender Applikation eine suffiziente Alternative zur effektiveren Desinfektion des Wurzelkanals darstellen. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um zukünftig einen sicheren klinischen Gebrauch realisieren zu können.

2 Einleitung

2.1 Einführung und mikrobiologische Aspekte der endodontischen Therapie

Das Fachgebiet der Endodontologie stellt einen wichtigen Bereich der Konservierenden Zahnheilkunde dar und gewann in den letzten Jahrzehnten stetig an Bedeutung. Mit der Wurzelkanalbehandlung ist der Zahnarzt in der Lage, dem steigenden ästhetischen Bewusstsein des Patienten, häufig verbunden mit dem Wunsch nach dem Erhalt der eigenen Zähne, gerecht zu werden. Durch weiter entwickelte Techniken zur Suppression der Bakterien im Wurzelkanalsystem konnte die Rate der Langzeiterfolge von Wurzelkanalbehandlungen inzwischen auf etwa 90 % gesteigert werden (Imura et al. 2007).

Das Pulpagewebe besteht u. a. aus Odontoblasten, Fibroblasten, Abwehrzellen, einer interzellulären oxytalanartigen Grundsubstanz, retikulären und kollagenen Fasern sowie aus Blut- und Nervengefäßen. Die in den Dentintubuli gelegenen Odontoblastenfortsätze sind zellulärer Bestandteil der Pulpa. Die Odontoblasten sind in der Lage, auf iatrogene oder natürliche Reize, die physikalischer, chemischer, toxischer oder mikrobiologischer Art sein können, mit der Bildung von Reizdentin zu reagieren (Schroeder 2000). Unter den pathogenen Reizen ist die Karies mit 95 % als häufigste Ursache der Pulpaerkrankungen zu nennen (Schäfer 2001). Eine durch derartige Reizung ausgelöste Entzündungsreaktion des Pulpengewebes wird als Pulpitis bezeichnet.

Bei den Pulpitiden kann man reversible und irreversible Formen unterscheiden. Aus dieser Unterscheidung leiten sich die jeweiligen therapeutischen Konsequenzen ab.

Bei der reversiblen Pulpitis sollte das kariöse Dentin möglichst vollständig entfernt und die pulpanahe Dentinwunde mit einem Kalziumhydroxidpräparat abgedeckt werden. Dadurch werden die verbliebenen Mikroorganismen supprimiert und es erfolgt meist eine Ausheilung.

Bei der irreversiblen Form der Pulpitis zeigt der Patient häufig ein typisches klinisches Bild mit meist starken, spontan und häufig auch nachts auftretenden Schmerzen, die weniger gut zu lokalisieren und häufig ausstrahlend sind. Es besteht eine verstärkte Empfindlichkeit bei Wärme. Die körpereigene Abwehr ist erschwert,

da die Pulpa bis auf das Foramen apicale von Hartgewebe umgeben ist und deshalb der Austausch von Entzündungszellen und Zellen der Abwehr eingeschränkt ist (Nair 1998).

Als einzige therapeutische Maßnahme zum Erhalt des Zahnes verbleibt im Fall einer irreversiblen Pulpitis die Wurzelkanalbehandlung (Schroeder 2000, Jose F 2006).

Zu Beginn der endodontologischen Behandlung erfolgt zunächst die Trepanation des Zahnes. Die Präparation der Zugangskavität sollte so durchgeführt werden, dass nach der Eröffnung des Pulpenkavums alle Wurzelkanäle aufzufinden sind und die Aufbereitung, Reinigung und Desinfektion dieser durch einen geradlinigen Zugang erfolgen kann, um das Risiko von Instrumentenfrakturen zu minimieren. Allerdings ist dabei eine unnötige Schwächung der Zahnhartsubstanz zu vermeiden (Alsamadani et al. 2012).

Die Aufbereitung aller vorhandenen Wurzelkanäle muss angestrebt werden, um eine Persistenz der bakteriellen Infektion, ausgehend von nicht aufbereiteten, infizierten Kanälen, zu verhindern. Durch die mechanische und chemische Aufbereitung soll das Kanalsystem von infiziertem Gewebe, organischen Bestandteilen, Bakterien und deren Produkten gereinigt werden.

In der Endodontie wurden seit den 1980er Jahren zunehmend die Edelstahl- durch Nickel-Titan-Feilen abgelöst. Diese konnten sich in der klinischen Anwendung etablieren, da sie gegenüber den Edelstahl-Feilen deutlich elastischer sind und dadurch eine Aufbereitung von schwer zugänglichen apikalen Regionen erleichtern. Damit auch im apikalen Wurzeldrittel eine ausreichende Elimination von Debris mittels Spüllösungen erreicht wird, sollte die Aufbereitung der Kanäle bis mindestens zur ISO-Größe 30 erfolgen (Khademi et al. 2006). Dadurch kann der Misserfolg durch persistierende Bakterien minimiert werden (Peters 2004), da Spüllösungen nur etwa einen Millimeter tiefer nach apikal gelangen, als die Spitze der Spülkanüle vordringen kann (Chow 1983, Khademi et al. 2006).

Beim Spülvorgang selbst sollte ein Verkeilen der Nadel im Wurzelkanal vermieden werden, da sonst die Gefahr der Extrusion der Spülflüssigkeit in das periapikale Gewebe besteht (Bradford et al. 2002, Serper et al. 2004). Diese Komplikation kann, besonders bei der Anwendung von Natriumhypochlorit, beim Patienten starke, brennende Schmerzen mit Gesichtsschwellung und -rötung mit anschließendem Hautausschlag verursachen (Serper et al. 2004).

Zum Abschluss der Wurzelkanalbehandlung sollten alle Kanäle bis zur Wurzelspitze abgefüllt und die Kanaleingänge dicht verschlossen werden, um den Langzeiterfolg durch persistierende bzw. durch koronal eindringende Mikroorganismen nicht zu gefährden.

Aus diesem Grunde ist großer Wert auf eine dichte Füllung der Zugangskavität zu legen und gegebenenfalls der behandelte Zahn später mit einer stabilen und randständigen Restauration zu versorgen (Peters 2004).

Oft ist es im Rahmen der Therapie trotz der Anwendung von medikamentösen Einlagefüllungen und Spüllösungen nicht möglich, bestimmte bakterielle Spezies im Bereich der Dentintubuli und der akzessorischen Seitenkanäle ausreichend zu supprimieren (Siqueira und de Uzeda 1996, Nair et al. 2005).

Im Falle einer primären endodontischen Infektion ist der Behandlungserfolg durch eine Kontamination des infizierten Pulpagewebes mit einem breiten mikrobiologischen Spektrum gefährdet.

Es ist davon auszugehen, dass die Keimzahlen zwischen 10^2 und 10^7 liegen (Peters et al. 2002a). Bei einer infizierten Pulpa, mit Ausdehnung der Entzündung bis in die periapikale Region, liegt die Zahl der vorhandenen Mikroorganismen bei ca. 4×10^5 Bakterienzellen (Bystrom und Sundqvist 1981).

Dabei gilt, je größer die Ausdehnung der periapikalen Entzündungsreaktion, umso größer ist die Anzahl der Mikroorganismen im Wurzelkanal (Bystrom et al. 1987).

Bei der Infektion können anaerobe gramnegative Spezies wie *Tannerella*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* und *Treponema* isoliert werden.

Bei 90 bis 100 % der nachgewiesenen Bakterien aus dem Wurzelkanal handelt es sich um obligat anaerobe Mikroorganismen (Bystrom et al. 1987, Sundqvist 1994).

Auch grampositive anaerobe Mikroorganismen wie beispielsweise Peptostreptokokken, Eubakterien und Pseudoramibacter oder fakultativ beziehungsweise mikroaerophile Streptokokken können vorhanden sein (Gomes et al. 2004).

Das Ausmaß der Entzündung bei der primären Infektion ist nicht durch ein bestimmtes pathogenes Bakterium bedingt, sondern wird durch den Synergie-Effekt der verschiedenen Spezies ausgelöst (Peters et al. 2002a).

Bei der sekundären endodontischen Infektion wurde das Wurzelkanalsystem entweder während oder nach der Wurzelkanalbehandlung mit Mikroorganismen besiedelt. Es werden gegenüber der primären Infektion weniger Spezies nachgewiesen, wobei grampositive fakultativ anaerobe Bakterien dominieren (Gomes et al. 2004). Oft ist sogar eine Monoinfektion mit grampositiven fakultativen Anaerobiern der Auslöser der Entzündung (Pinheiro et al. 2003, Figdor und Sundqvist 2007).

Diese sekundäre Infektion kann häufig mit einer Revisionsbehandlung therapiert werden (van der Meer und Stegenga 2004), wobei Desinfektionsmittel bei den Monoinfektionen verglichen mit den Mischinfektionen weniger erfolgreich sind (Pinheiro et al. 2003, Figdor und Sundqvist 2007).

Eine Elimination sämtlicher Spezies im Wurzelkanal mittels geeigneter Agenzien ist somit sowohl nach primärer als auch nach sekundärer Infektion unabdingbar, um ein Scheitern der zahnerhaltenden Maßnahmen und damit eine chirurgische Intervention zu umgehen (Lindeboom 2004).

2.2 *Enterococcus faecalis*

Als besonders widerstandsfähig gegenüber chemo-mechanischen Therapiemaßnahmen gilt die grampositive, fakultativ anaerobe, katalasenegative Spezies *E. faecalis* (Schafer und Bossmann 2005).

Diese robuste Bakterienspezies kann auch an allgemeinmedizinisch relevanten Erkrankungen wie Endokarditis, Atem- und Harnwegsinfekten, Infektionen des zentralen Nervensystems und neonatalen Infektionen beteiligt sein (Murray 1990, Vankerckhoven et al. 2008). Bei den nosokomialen Infektionen zählt *E. faecalis* zu den drei häufigsten Bakterienstämmen (Murray 1990, Leclercq 2009, Arias et al. 2010).

E. faecalis gehört eigentlich zu den Darmbakterien und kommt nur in geringer Anzahl in der gesunden Mundflora vor. Es besteht die Vermutung, dass diese Mikroorganismen mit der Nahrung in die Mundhöhle gelangen und exponierte Wurzelkanäle durch den Speichel des Patienten infiziert werden. Um den Behandlungserfolg nicht zu gefährden, ist daher eine absolute Trockenlegung bei der

Wurzelkanalbehandlung dringend zu empfehlen. Denn nach Exposition der Wurzelkanäle gegenüber dem Speichel konnten vermehrt Enterokokken im Pulpa-Dentin-System nachgewiesen werden (Siren et al. 1997).

Die Prävalenz der endodontopathogenen Spezies *E. faecalis* liegt bei persistierenden Infektionen des Wurzelkanals zwischen 22 % und 70 % (Siqueira und Rocas 2004, Fouad et al. 2005, Nair 2006).

Bei 75 % der Patienten mit endodontischen Infektionen konnten generell Enterokokken in der Mundhöhle nachgewiesen werden (Gold et al. 1975). Auch bei der chronischen Parodontitis ist *E. faecalis* im Vergleich zum gesunden Parodont signifikant häufiger im Speichel und im subgingivalen Biofilm nachweisbar (Souto und Colombo 2008). Außerdem scheint diese Spezies auch eine Rolle in der Ätiologie der Karies zu spielen (Chestnutt et al. 1994, Koudhi et al. 2011a, Koudhi et al. 2011b). Diese grampositiven Bakterien können Spülungen mit CHX (Estrela et al. 2007, Du et al. 2014), Natriumhypochlorit (Elakanti et al. 2015) und medikamentöse Zwischeneinlagen mit Kalziumhydroxid (Evans et al. 2002, Fuss et al. 2002, Kvist et al. 2004, Wu et al. 2006, Ran et al. 2013) sowie die Applikation von Clindamycin, Tetracyclin, Erythromycin, Iod-Kaliumiodid und MTA-Zement (mineral trioxide aggregate) überleben (George und Ivancakova 2007, Rocas und Siqueira 2013, Kim et al. 2015). Kvist et al. beobachteten beispielsweise in-vivo nach einer medikamentösen Zwischeneinlage mit Kalziumhydroxid bei 36 % der untersuchten Zähne mit apikaler Parodontitis noch *E. faecalis* (Kvist et al. 2004).

In früheren Untersuchungen wurde bereits vermutet, dass *E. faecalis* in relativ kurzer Zeit 151 bis 420 µm tief in das menschliche Wurzeldentin penetrieren kann (Gomes et al. 2003, Schafer und Bossmann 2005, Kakoli et al. 2009, Harrison et al. 2010, de Lucena et al. 2013, Ossmann et al. 2015).

Mikroorganismen wie *S. sanguinis* oder *E. coli* benötigen für das Eindringen in die Tubuli hingegen einige Wochen (Orstavik und Haapasalo 1990). *E. faecalis* ist vermutlich in der Lage, speziell durch die Bindung an Kollagen Typ I-Fasern (Love 2001) in der Tiefe der Dentintubuli zu persistieren und sich dort zu vermehren (Gomes et al. 2001, Sigusch et al. 2014).

Kayaoglu et al. stellten fest, dass diese Kollagen-Assoziation zu einer Erhöhung der Toleranz von *E. faecalis* gegenüber Kalziumhydroxid führt (Kayaoglu et al. 2009). Diese Spezies ist so in der Lage, sich auch der antibakteriellen Wirkung konventioneller Spülungen und anderer medikamentöser Einlagen zu entziehen. Aus

diesem Grund spielt *E. faecalis* häufig bei sekundären endodontischen Infektionen eine große Rolle (Nair et al. 1990, Sundqvist 1992, Siren et al. 1997, Molander et al. 1998, de Paula et al. 2014).

Diese Spezies ist derart widerstandsfähig, dass in einem In-vitro-Modell bei bereits wurzelkanalgefüllten Zähnen noch nach einem Jahr ohne Substratzufuhr Bakterien nachweisbar waren. Es liegt daher die Vermutung nahe, dass kleinste Serum-Reste als Substrat für *E. faecalis* ausreichen, um eine derartig lange Zeit das Überleben zu sichern, wodurch sich auch die Persistenz periapikaler Infektionen erklären würde (Figdor 2004, Sedgley et al. 2006).

Zur Suppression von Bakterien kommen während der Wurzelkanalbehandlung verschiedene Agenzien zum Einsatz, auf die im Folgenden eingegangen wird.

2.3 Medikamente des Wurzelkanals

Die intrakanalären Medikamente im Rahmen der Wurzelkanalbehandlung lassen sich in die Gruppen Spüllösungen, medikamentöse Einlagefüllungen und Sealer unterteilen.

Durch die alleinige mechanische Aufbereitung ohne Zwischenspülung wird keine ausreichende Suppression der Mikroorganismen erreicht. Es kann auf diesem Wege wahrscheinlich nur eine Reduktion von 10^2 bis 10^3 Bakterien realisiert werden (Bystrom und Sundqvist 1981). Ohne die Anwendung einer Spülung verbleiben 70 % mehr Rückstände im Wurzelkanal (Baker et al. 1975).

Durch den Ein- und Rückfluss (Microstreaming) der jeweiligen Spülflüssigkeit soll eine Desintegration des bakteriellen Biofilms und damit eine antimikrobielle Wirkung sowie die Auflösung beziehungsweise der Abtransport von Pulpagewebe und Debris erreicht werden (Siqueira et al. 2002).

Als Spülflüssigkeit der ersten Wahl hat sich Natriumhypochlorit aufgrund seiner Wirksamkeit gegen ein breites Bakterienspektrum bei endodontischen Infektionen bewährt (Waltimo et al. 1999). NaOCl wurde ursprünglich im Ersten Weltkrieg als Reinigungsmittel für Wunden verwendet. Die Spüllösung ist gegen grampositive und gramnegative Spezies wirksam, auch eine Supprimierung von Pilzen konnte festgestellt werden (Waltimo et al. 1999). Darüber hinaus erfolgt durch die

Verwendung von Natriumhypochlorit eine Auflösung organischen Gewebes, wodurch der mechanische Hartsubstanzabtrag erleichtert wird.

Diese Gewebeauflösung steigt mit zunehmender Konzentration, Applikationsmenge und -dauer sowie der Temperatur der NaOCl-Lösung (Hand et al. 1978, Abou-Rass und Oglesby 1981, Peters J. 1988).

Die Erwärmung von NaOCl erhöht sowohl die antibakterielle als auch die gewebeauflösende Effektivität und sollte erst kurz vor der Anwendung erfolgen, da die Substanz nach diesem Vorgang nur für etwa vier Stunden stabil bleibt (Cunningham und Balekjian 1980, Cunningham und Joseph 1980).

Die Vorgehensweise der Erwärmung ist besonders bei gekrümmten Kanälen empfehlenswert, da sich, bedingt durch die Konizität des Wurzelkanals, eine geringere Menge der Spülflüssigkeit im apikalen und peripheren Bereich des Kanals befindet und in diesen Arealen eine ohnehin verringerte antibakterielle Wirkung zu erwarten ist (Attin et al. 2002).

Ein weiteres Medikament für Wurzelkanalspülungen ist das meist in 2 %iger Konzentration angewendete kationische Bisbiguanid Chlorhexidin (CHX). Durch seine chemischen Eigenschaften ist es in der Lage, die Zellmembran von Bakterien zu durchdringen und somit die Mikroorganismen zu schädigen. Daraus resultiert zwar eine gute antibakterielle Wirksamkeit, jedoch ohne nennenswerte gewebeauflösende Eigenschaften. Außerdem wurde festgestellt, dass Dentinspäne und die Anwesenheit von Serumalbumin die antibakterielle Wirkung von CHX, speziell gegenüber *E. faecalis*, reduzieren (Portenier et al. 2006).

Die Effektivität der Kanalspülungen kann durch die Anwendung von Ultraschall (25-40 kHz) gesteigert werden. Es wird ein hydrodynamischer Effekt innerhalb der verwendeten Spüllösung erzeugt, wodurch eine erhöhte Zersetzung von Enzymen und Bakterien erreicht werden soll. Die apikale Region, in der sich Pathogene befinden, wird nur erreicht, wenn ein freies Schwingen der Feile möglich ist (Lee et al. 2004).

Es konnte allerdings gezeigt werden, dass nach mechanischer Aufbereitung und antibakterieller Spülung nur etwa 50 - 70 % der infizierten Wurzelkanäle völlig frei von bakterieller Kontamination waren. Deshalb ist die zusätzliche Anwendung antimikrobieller Einlagen unbedingt erforderlich (Bystrom und Sundqvist 1983, Barnett et al. 1985, Peters et al. 2002b, Schafer und Bossmann 2005).

Zur Reduktion der periapikalen Entzündung und als antibakterielle Agenzien werden medikamentöse Einlagen wie Kalziumhydroxid oder Ledermix-Paste verwendet.

Ein wirksamer Inhaltsstoff von Ledermix ist Triamcinolon, das zur Gruppe der Steroide gehört. Ein weiterer Bestandteil ist das Breitspektrum-Antibiotikum Demeclocyclin, das zur Gruppe der Tetracycline zählt. Insgesamt bewirkt Ledermix eine rasche Linderung periapikaler Entzündungssymptome (Athanassiadis et al. 2013).

Generell schneiden aber die Steroide bzw. Antibiotika in Studien nicht besser ab als das in vorliegender Studie verwendete Medikament Kalziumhydroxid. Trotz unterschiedlicher Mechanismen wird durch beide Medikamente keine ausreichende Suppression der Bakterien erzielt (Evans et al. 2002, Schafer und Bossmann 2005, Athanassiadis et al. 2010).

Es wurde u. a. auch festgestellt, dass NaOCl gegen *Candida albicans* eine höhere Effektivität als Kalziumhydroxid besitzt. Generell bewirkt eine Kombination aus einer Kalziumhydroxid-Einlage und einer NaOCl- beziehungsweise CHX-Kanalspülung einen Effekt auf ein breites antimikrobielles Spektrum und ein Misserfolg bei der endodontischen Therapie kann so minimiert werden (Waltimo et al. 1999).

Bei der Kontamination des Endodonts mit robusten Spezies wie *E. faecalis* kann es trotz sorgfältiger Anwendung antibakteriell wirksamer Spülungen und medikamentöser Einlagen zu einer Persistenz von Mikroorganismen kommen. Um dem entgegenzuwirken, werden bei der Wurzelfüllung antibakteriell wirksame Sealer verwendet. Diese lassen sich in die Gruppen Zinkoxid-Eugenol-basierte Sealer (Tg-Sealer), Calciumhydroxid-basierte Sealer (Apexit), Glasionomer-Sealer (Ketac endo), Harz-basierte Sealer (AH Plus) und Silikon-Sealer (RoekoSeal) unterteilen (Hasheminia et al. 2017).

In einer Studie wurden 24 Veröffentlichungen verglichen, deren Ziel es jeweils war, die Wirksamkeit verschiedener Sealer gegen *E. faecalis* zu untersuchen. Dabei wurde festgestellt, dass ein Großteil der Wurzelfüllpasten nur in den ersten 24 Stunden eine antibakterielle Effektivität gegen *E. faecalis* aufweist. Nach dem Aushärten des Materials ging diese Wirkung meist verloren (AlShwaimi et al. 2016).

Auch in der Jenaer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass Sealer nicht in der Lage sind, persistierende Bakterien ausreichend zu supprimieren (Heyder et al. 2013).

2.4 Chloramin-T

Für das Präparat Chloramin-T (Tosylchloramid-Natrium) wird seit längerer Zeit eine mögliche Wirkung auf nahezu jede Art von Mikroorganismen wie Bakterien, Pilze und Hefen diskutiert. Die desinfizierende Wirkung von Chloramin-T wurde erstmalig 1916 von H. D. Dakin beschrieben und ist schon seit der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts bekannt.

Dieses Antiseptikum wird in Form einer 0,5 %igen Lösung für die Flächen-, Wäsche- und Händedesinfektion verwendet (Hermann 2004, D'Alo et al. 2012).

Mit Chloramin-T sind humanpathogene Viren wie Coxsackie-, Adeno-, Parainfluenza-, Polio- und Corona-Viren supprimierbar (Gowda et al. 1981, Sattar et al. 1989, Tirapelli et al. 2010). Im Gegensatz zu NaOCl wurden auch nach der Anwendung von Chloramin-T bisher weder makroskopische noch mikroskopische Veränderungen der Epithelien nachgewiesen (Cullen und Taylor 1918, Kloth et al. 2007, Tirapelli et al. 2010). Außerdem wird für Chloramin-T im Vergleich zu Natriumhypochlorit eine bessere antibakterielle Wirksamkeit in der Anwesenheit von infektiösem organischem Material beschrieben. Bereits 1988 erläuterte Peters die Problematik, u. a. der eingeschränkten Wirksamkeit in Anwesenheit chlorzehrender Substanzen, meist durch organisches Material und die eingeschränkte Haltbarkeit, die sich bei der Anwendung von Natriumhypochlorit gegenüber Chloramin-T ergibt (Peters J. 1988).

Obwohl die antibakterielle Wirkung des Chloramin-T seit vielen Jahren bekannt ist, fehlen bislang Studien, die den antimikrobiellen Effekt von Chloramin-T in den Dentintubuli untersuchen.

In der Klinik werden effizientere therapeutische Strategien gefordert, um vor allem auch *E. faecalis* in den Dentintubuli erfolgreich supprimieren zu können (Sigusch et al. 2014).

Eine alternative intrakanaläre Desinfektion wird besonders dann erforderlich, wenn der Erfolg der endodontischen Therapie durch anhaltende Schmerzen des Patienten oder eine persistierende periapikale Entzündung gefährdet ist (Spangberg 1994, Hou et al. 2017).

Auf der Suche nach einer potenteren Alternative zu den bereits beschriebenen und bisher nur begrenzt antimikrobiell wirksamen Agenzien, sollte im Rahmen der

vorliegenden In-vitro-Studie die antimikrobielle Wirksamkeit von Chloramin-T auf *E. faecalis* untersucht werden.

3 Zielstellung

Eines der wichtigsten Ziele bei der Wurzelkanalbehandlung besteht in der erfolgreichen Suppression der Mikroorganismen im Wurzelkanalsystem.

Besonders die robuste Bakterienspezies *Enterococcus faecalis* besitzt die Fähigkeit, in die Dentintubuli einzudringen und trotz der Anwendung antibakterieller Spülungen und medikamentöser Einlagefüllungen an dieser Stelle zu verbleiben und sich dort zu vermehren.

Im Fall einer Infektion des Wurzelkanalsystems mit *E. faecalis* resultiert häufig eine persistierende periapikale Infektion. Mit dem Ziel, diese widerstandsfähige Spezies im Kanalsystem zu supprimieren, werden in der Regel zahlreiche intrakanaläre Spülungen und medikamentöse Einlagen verwendet. Mit diesen konventionellen Methoden ist es allerdings meist nicht möglich, *E. faecalis* vollständig zu eliminieren.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, festzustellen, ob durch die Applikation von Chloramin-T *E. faecalis* in den Dentintubuli supprimierbar ist und ob sich seine Wirksamkeit im Vergleich zu den bisher als Goldstandard geltenden Desinfizienzien unterscheidet.

Die antimikrobielle Wirksamkeit von Chloramin-T auf *E. faecalis* wurde mit der Effektivität einer Natriumhypochlorit-Spülung beziehungsweise mit einer 24-stündigen Kalziumhydroxid-Einlage verglichen. Es wurde außerdem evaluiert, welche Menge von Chloramin-T zur Suppression von *E. faecalis* geeignet ist.

Mit dem gewählten Infektionsmodell sollte die Wirkung der Medikamente sowohl an der Wurzelkanalwand als auch in der Tiefe der Dentintubuli ermittelt und verglichen werden.

4 Material und Methoden

4.1 Verwendeter Bakterienstamm

In der vorliegenden In-vitro-Studie wurde die fakultativ anaerobe, grampositive Spezies *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) verwendet. Das Bakterienwachstum erfolgte unter standardisierten anaeroben Bedingungen in 10 ml Schaedler-Lösung (Oxoid Ltd., Hampshire, UK) für 3 Stunden. Für die Inokulation der Dentintubuli lag die optische Dichte (OD_{546nm}) der *E. faecalis*-Suspension bei einem Level von 0,5 (ca. 10^8 Bakterien pro ml).

4.2 Vorbereitung der Zähne

Die Methodik vorliegender Arbeit basiert auf einer Modifikation der kürzlich veröffentlichten Untersuchung der Jenaer Forschungsgruppe (Ossmann et al. 2015). Es wurden 50 extrahierte, nicht kariöse humane dritte Molaren mit runden und gerade verlaufenden Wurzeln verwendet. Die Zähne wurden zunächst in Natriumchlorid-Lösung (0,9 %) gesammelt und bei 4 °C maximal 2 Monate aufbewahrt.

Zur Reinigung der Außenflächen der Wurzeln dienten Küretten der Firma Hu-Friedy. Die Abtrennung der Zahnkronen erfolgte mit einer diamantierten Trennscheibe (Horico, Berlin) unter Wasserkühlung. Auf diese Weise konnten die Wurzeln von koronal auf eine gleiche Länge von 10 mm gekürzt werden. Die Entfernung des Pulpagewebes erfolgte mit Exstirpationsnadeln (Dentsply DeTrey, Konstanz), für eine weitere schrittweise Aufbereitung der Wurzelkanäle mit Reamern (Dentsply De Trey, Konstanz) bis zur ISO-Größe 50 unter ständiger Zwischenspülung mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg). Um einen feuchtigkeitsdichten Verschluss zu garantieren, erfolgte eine äußerliche Beschichtung der Wurzeln mit Glasionomerzement (Ketac Bond, 3M ESPE, Neuss). Für die bessere Handhabung bewährte sich das Einbringen der vorbereiteten Zähne in Polyvinylsiloxan (Flexitime, Heraeus Kulzer, Hanau).

4.3 Inokulation des Wurzelkanalsystems mit *E. faecalis*

Zur Entfernung der Schmierschicht wurden die Wurzelkanäle mit 2 ml Calcinase EDTA-Lösung (lege artis Pharma GmbH & Co KG, Dettenhausen) und danach mit 3 ml destilliertem Wasser gespült. Im Anschluss folgte das Autoklavieren der vorbereiteten Zähne in einer feuchten Kammer für 20 Minuten bei 121° C. Die Wurzelkanäle wurden mit 100 µl der *E. faecalis*-Suspension beimpft und anschließend in einer feuchten Kammer 48 Stunden unter anaeroben Bedingungen inkubiert. Um eine Austrocknung zu vermeiden, erfolgte nach 24 Stunden eine Befeuchtung der Zähne mit Schaedler-Lösung.

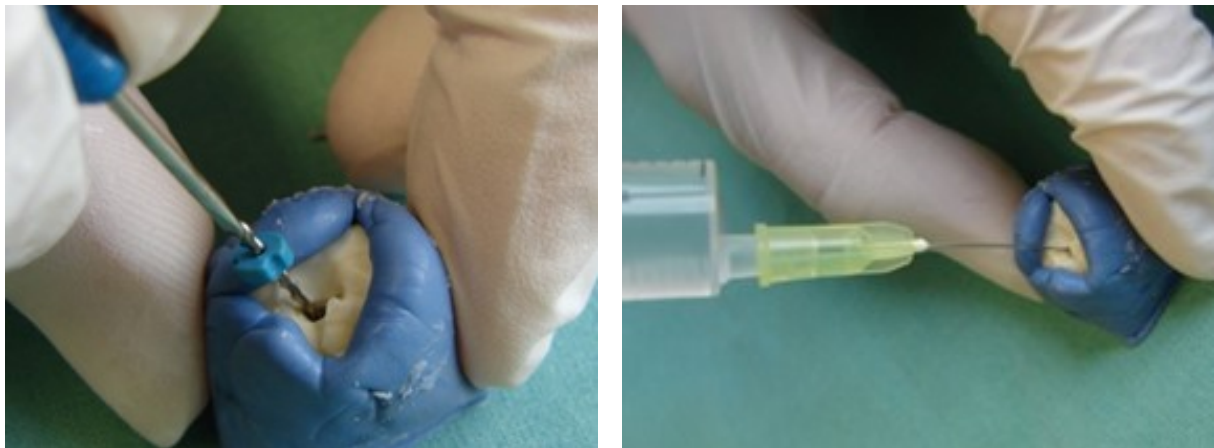


Abb. 1/2 Aufbereitung und Zwischenspülung des Wurzelkanals

4.4 Antibakterielle Behandlung des Wurzelkanalsystems

Die unter standardisierten Bedingungen vorbereiteten Zähne (n=50) wurden randomisiert nach zufälligem Auswahlprinzip den Versuchsgruppen zugeordnet (Abb. 3). In den ersten beiden Gruppen sollten zwei unterschiedliche Applikationsmengen von Chloramin-T (Tosylchloramid-Natrium) mit der Molaren Masse von $M=281,7 \text{ g/mol}$ (Merck KGaA, Darmstadt) untersucht werden.

In Testgruppe 1 erfolgte eine vollständige Auffüllung des Wurzelkanallumens mit Chloramin-T. Zur Bestimmung der eingefüllten Mengen diente eine Präzisionswaage (Firma Sartorius, Göttingen). Die Befüllung lag im Durchschnitt in Testgruppe 1 bei 7 mg je Zahn.

In Testgruppe 2 wurde eine sterile Papierspitze zunächst zur Befeuchtung in 0,9 % ige physiologische Natriumchlorid-Lösung und danach in Chloramin-T getaucht und die wenigen daran haftenden Kristalle (durchschnittlich 1,3 mg Chloramin-T) mit der Papierspitze in den Wurzelkanal appliziert.

In Kontrollgruppe 1 (positive Kontrolle) erfolgte die Applikation des Kalziumhydroxids (Calciur, VOCO GmbH, Cuxhaven) mittels einer dünnen Kanüle in den Wurzelkanal. Die Einwirkzeit der medikamentösen Einlagefüllungen der Testgruppen und der Kontrollgruppe 1 (Kalziumhydroxid) betrug 24 Stunden.

In den Kontrollgruppen 2 und 3 wurden die Wurzelkanäle praxisnah für 20 Sekunden mit 5 ml einer 1,5 %igen Natriumhypochlorit-Lösung (Hedinger, Stuttgart; Kontrollgruppe 2, positive Kontrolle) oder 5 ml einer 0,9 % NaCl-Lösung (Kontrollgruppe 3, Negativkontrollgruppe) gespült. Zur Simulation eines speicheldichten Verschlusses folgte eine Abdeckung der Kanaleingänge mit Polyvinylsiloxan.

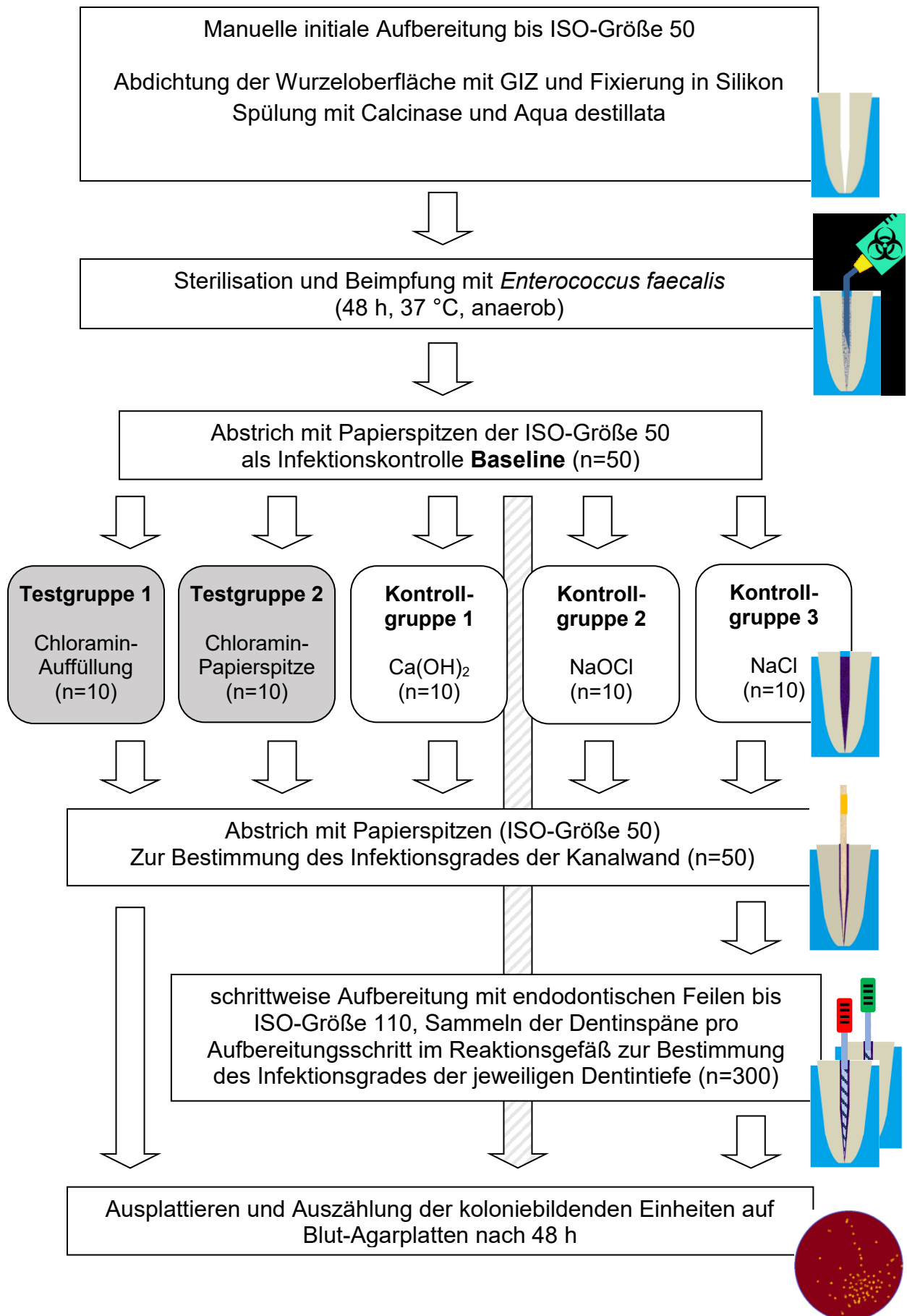


Abb. 3 Übersicht zur Einteilung in die Versuchsgruppen

4.5 Bestimmung der Baseline-Infektion und mikrobiologische Analyse der Dentinspäne

Um vor dem Einbringen der antibakteriellen Einlagen den Infektionsstatus der Wurzelkanäle zu kontrollieren, wurden mit je zwei sterilen Papierspitzen (Absorbent Paper Points, VDW, München) aus den Kanälen Abstriche entnommen (Baseline). Es folgte die Resuspension der Proben in 1 ml Natriumchloridlösung sowie die Herstellung dekadischer Verdünnungsreihen bis 10^{-6} und das Ausplattieren auf Blut-Agarplatten. Nach 24 Stunden anaerober Inkubation konnten die KBE auf den Agarplatten ausgezählt und die Baseline bestimmt werden (Abb. 4).

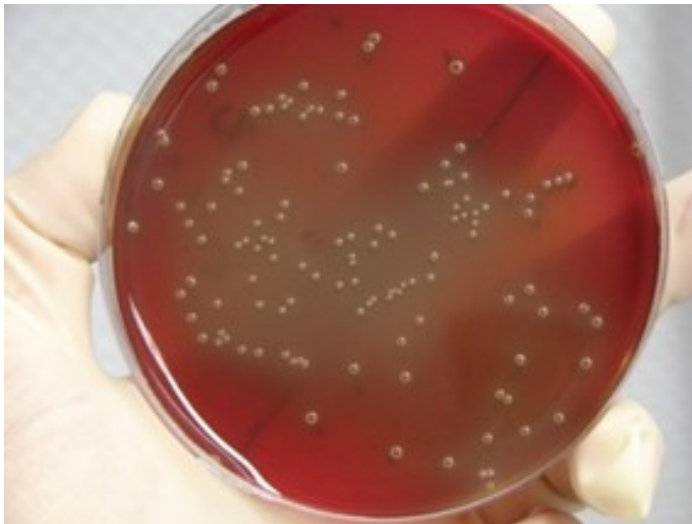


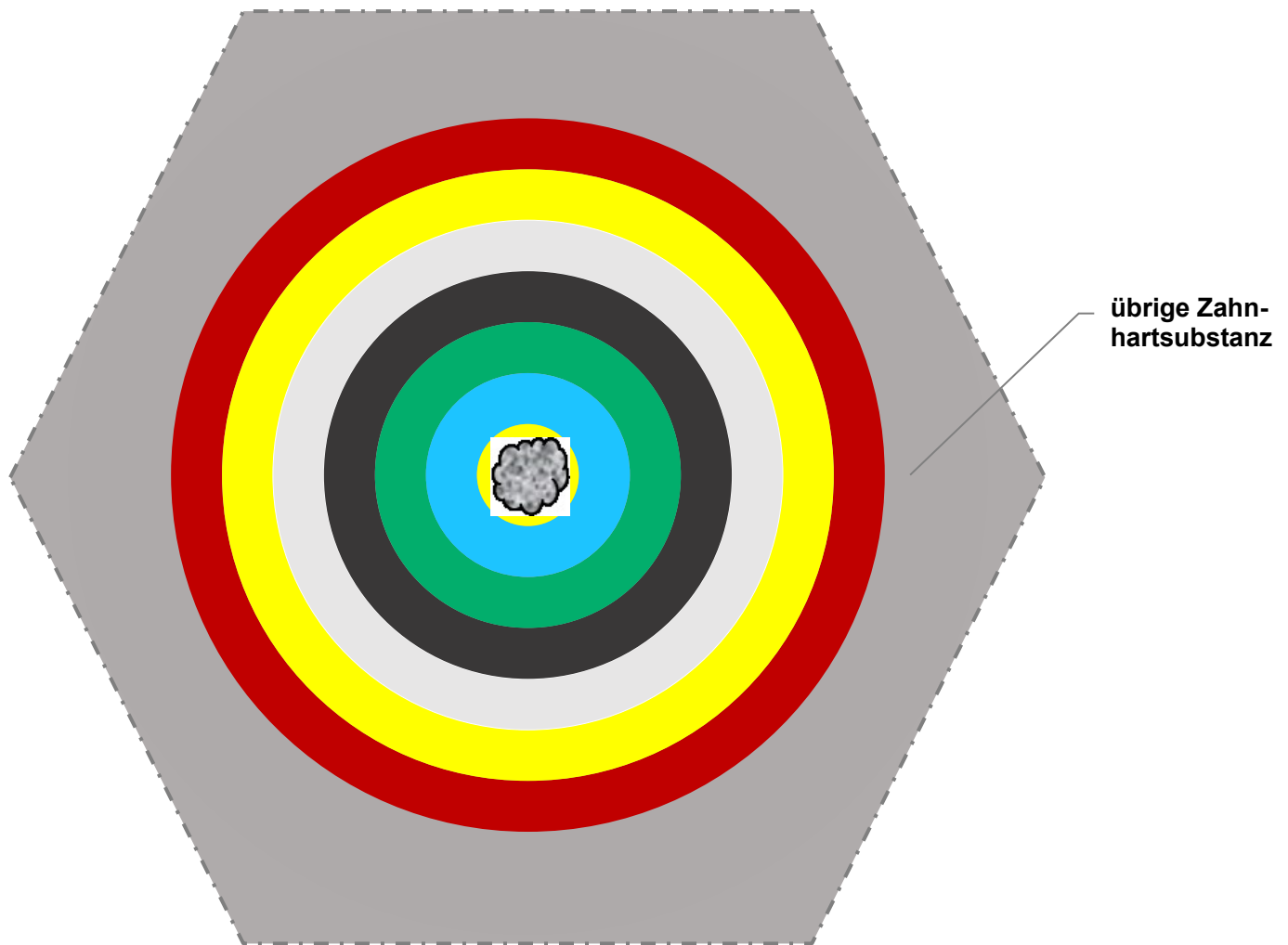
Abb. 4 *E. faecalis* auf Schaedler-Agar

Nach der 24-stündigen Einwirkzeit der antibakteriellen Einlagen wurde jeweils eine erste Probe von der Wurzelkanalwand entnommen. Dazu verblieben nacheinander zwei Papierspitzen der ISO-Größe 50 für je 10 Sekunden im Wurzelkanal (P50-Probe, Kanalwand). Um die antibakterielle Wirkung der Medikamente in den tieferen Bereichen der Dentintubuli zu untersuchen, erfolgte eine schrittweise manuelle Aufbereitung mittels K-Reamern (ANTAEoS CC+, VDW, München) aufsteigender ISO-Größen von ISO 50 bis ISO 110 (Probe 50 bis 110), mit einem Dentin-Abtrag von ca. 50 μm zur jeweils nächsten ISO-Größe (Abb. 5). Zur Gewinnung dieser Proben wurde der Wurzelkanal mit einem Reamer der entsprechenden ISO-Größe mit 10 gleichmäßig durchgeführten Dreivierteldrehungen aufbereitet. Die abgetragenen Dentinspäne wurden mitsamt der verwendeten Feile, ebenso wie die mittels einer Papierspitze der ISO-Größe 50 aufgenommenen im Kanal verbliebenen

Dentinspäne, in dasselbe Reaktionsgefäß überführt. Diese Vorgehensweise sollte für jede ISO-Größe in dieser Art zwei Mal durchgeführt werden. Bevor die Instrumentierung mit Reamern der nächsten ISO-Größe erfolgte, wurden mittels Zwischenspülungen mit 3 ml Natriumchloridlösung (0,9 %) übrige Dentinspäne aus dem Wurzelkanal entfernt.

Im Anschluss erfolgte die Resuspension der Proben in 1 ml Natriumchloridlösung sowie die Anfertigung dekadischer Verdünnungsreihen bis 10^{-6} auf Blutagarplatten (Schaedler Anaerobic Agar, Oxoid Ltd, Hampshire, UK) mit 6 % Schafblut und 0,1 % Vitamin K (MM 10 mg, Roche Pharma AG, Basel, Switzerland) und die anaerobe Kultivierung für 24 Stunden. Vitamin K ist eine bekannte Nährlösung zur Verbesserung der Kultivierung der fakultativ anaeroben Spezies *E. faecalis* (Seneviratne et al. 2013).

Zur Ermittlung der KBE/ml wurden zunächst pro Verdünnungsstufe 3 Proben ausplattiert und nach 24 Stunden die koloniebildenden Einheiten ausgezählt. Im Anschluss folgte die Bestimmung des Mittelwertes aus diesen 3 Proben. Durch die Multiplikation dieses Mittelwertes mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor und anschließender erneuter Determination des Mittelwertes ergab sich die Anzahl der KBE/10 µl. Durch Multiplikation dieses Ergebnisses mit 100 konnten die KBE/ml ermittelt werden.



Der Dentinabtrag von einer ISO-Größe zur nächsten beträgt ca. 50 μm .

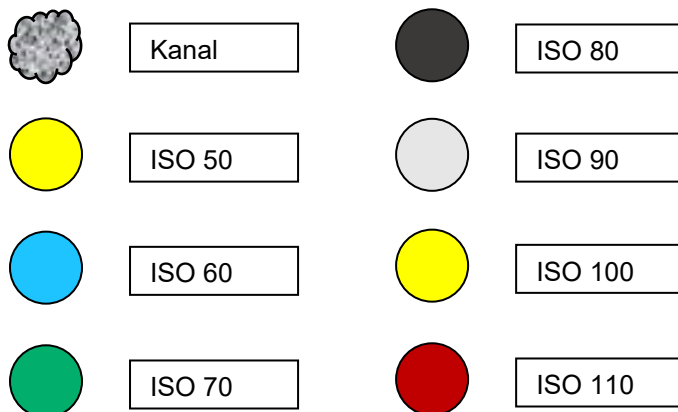


Abb. 5 Zusammenhang zwischen ISO-Größe und Dentinabtrag, eingesetzte K-Reamer

4.6 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mit der SPSS 20.0 PC-Software (SPSS, Inc., Dallas, USA) durchgeführt. Diese Software diente ebenso der Erstellung der Box-Whisker-Plots zum jeweiligen Vergleich der antibakteriellen Effekte der Testgruppen 1 und 2 bzw. der Kontrollgruppen 1 und 2 mit der Negativkontrollgruppe 3, NaCl (Abb. 6-9).

Die zugrunde liegenden Basisdaten aus dem Statistikprogramm SPSS sind im Anhang den Tabellen 1-3 zu entnehmen.

Die Ermittlung der signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte mit dem t-Test. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

Für die multiplen Paarvergleiche erfolgte die Fehlerkorrektur nach Bonferroni.

Das Liniendiagramm zum Vergleich der Test- und Kontrollgruppen (Abb. 10) wurde mithilfe der Tabellen-Kalkulations-Software Excel 2008 (Microsoft-Corporation, Redmont, USA) erstellt.

Eine Übersicht der Daten für die statistische Analyse ist Tabelle 4 im Anhang zu entnehmen.

5 Ergebnisse

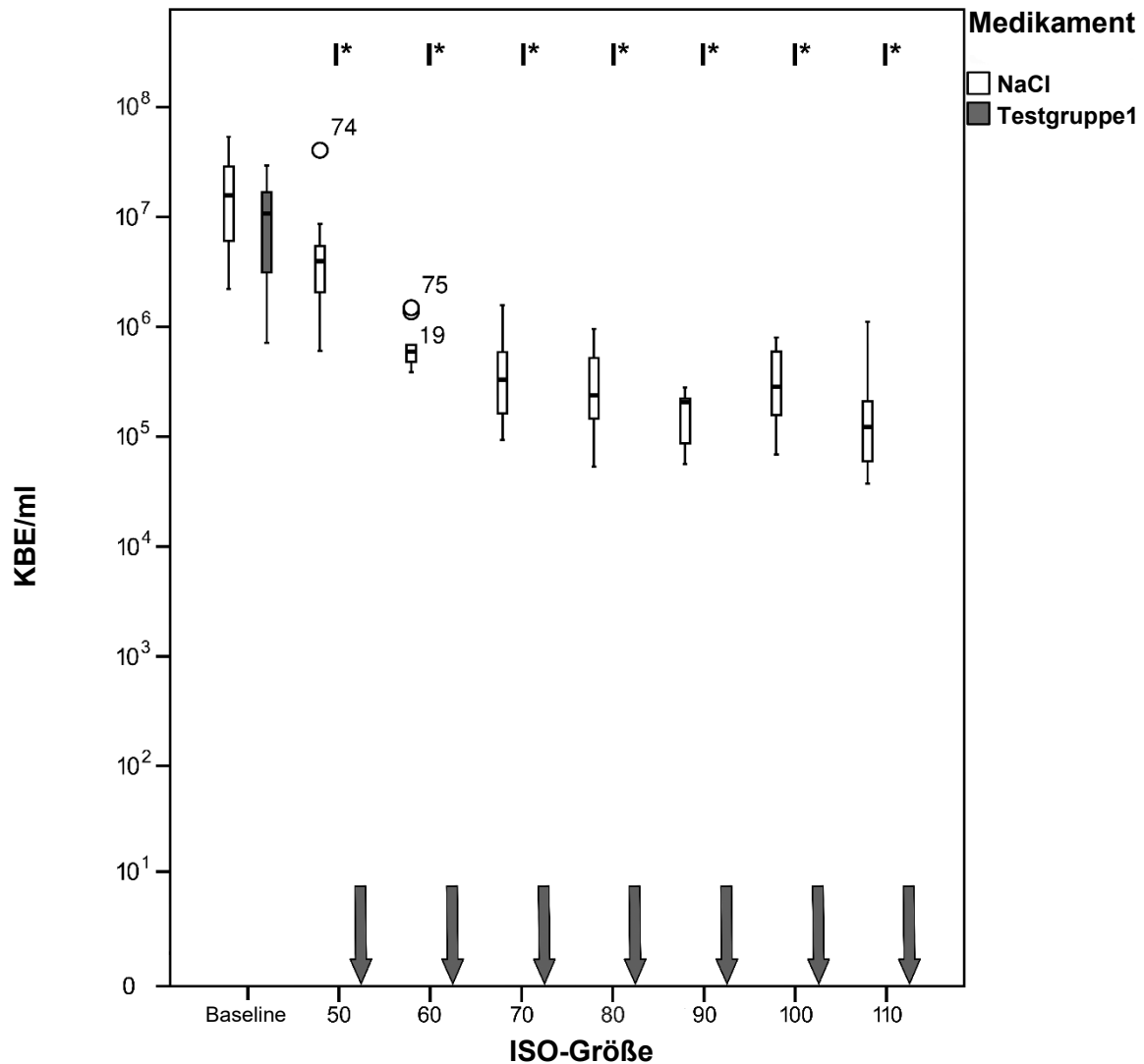
Das Ziel der vorliegenden in-vitro Studie war es, die antibakterielle Effektivität von Chloramin-T auf *E. faecalis* im Wurzelkanal zu bestimmen. Dabei wurden zwei Applikationsmengen von Chloramin-T (Testgruppen 1 und 2) mit den bereits etablierten antimikrobiellen Desinfizienzien Kalziumhydroxid (Kontrollgruppe 1) und Natriumhypochlorit (Kontrollgruppe 2) als positive Kontrollen verglichen. Als Negativkontrolle kam NaCl (Kontrollgruppe 3) zur Anwendung.

Mit der in der vorliegenden Studie verwendeten und von der Jenaer Arbeitsgruppe bereits etablierten Methode (Ossmann et al. 2015) konnte *E. faecalis* zunächst in allen Wurzelkanälen kultiviert werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass diese Spezies bis zu einer ISO-Größe von 110 in die Dentintubuli penetriert (Abb. 6-9). Das entspricht etwa einer Kolonisationstiefe von 300 µm, gemessen von der Kanalwand. Der Durchschnittswert der Bakterien in den unbehandelten Wurzelkanälen betrug $1,58 \times 10^7$ KBE/ml (Baseline-Infektion).

Eine Reduktion der bakteriellen Besiedlung im Vergleich zur Kontrollgruppe NaCl ist in den graphischen Darstellungen der Untersuchungsergebnisse (Abbildungen 6-9) jeweils mit folgendem Symbol markiert: I*.

Antibakterieller Effekt der Chloramin-T-Auffüllung



Baseline **Baseline-Wert vor der Therapie**, d. h. bakterielle Besiedlung der Kanalwand nach 24-stündiger Inkubationszeit mit *E. f.*

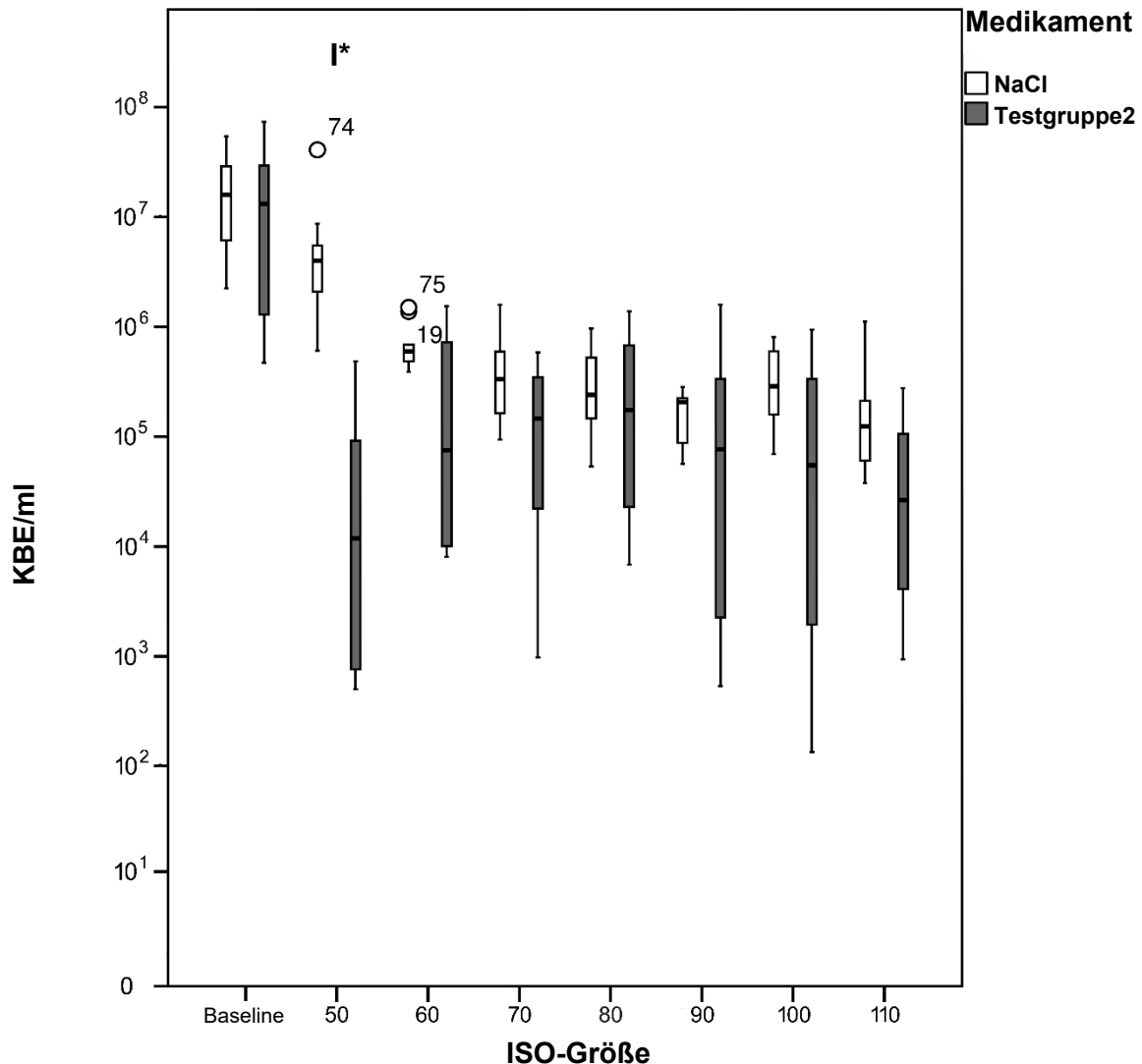
ISO 50 bakterielle Besiedlung der **Kanalwand** nach Therapie mit dem jeweiligen Medikament

ISO 60-110 bakterielle Besiedlung der **Dentintubuli** nach Aufbereitung entsprechender ISO-Größe

Abb. 6 Antibakterielle Effekte der Testgruppe 1 (Chloramin-T-Auffüllung) und NaCl

In der Testgruppe 1 wurde der Wurzelkanal jeweils vollständig mit Chloramin-T gefüllt. Mit dieser Methodik konnten die besten Ergebnisse erzielt werden. An der Kanalwand und für alle Dentintiefen war eine vollständige Suppression von *E. faecalis* nachweisbar (siehe Pfeile).

Antibakterieller Effekt der Chloramin-T-Papierspitze



Baseline **Baseline-Wert vor der Therapie**, d. h. bakterielle Besiedlung der Kanalwand nach 24-stündiger Inkubationszeit mit *E. f.*

ISO 50 bakterielle Besiedlung der **Kanalwand** nach Therapie mit dem jeweiligen Medikament

ISO 60-110 bakterielle Besiedlung der **Dentintubuli** nach Aufbereitung entsprechender ISO-Größe

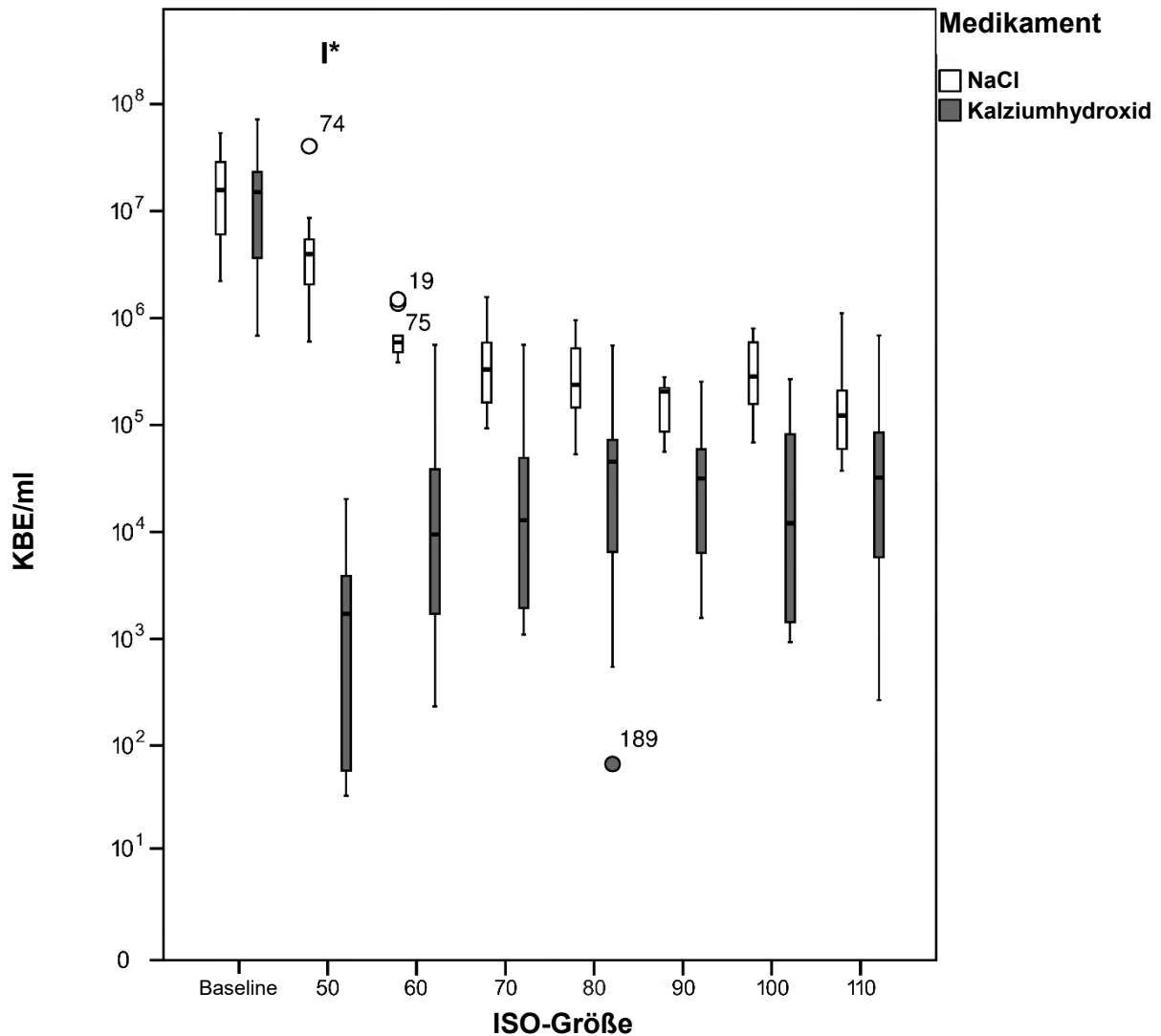
Abb. 7 Antibakterielle Effekte der Testgruppe 2 (Chloramin-T-Papierspitze) und NaCl

Aber auch in der Testgruppe 2 konnte an der Wurzelkanalwand eine signifikante Bakterienreduktion erzielt werden. Im Vergleich zum Baseline-Wert führte die Behandlung mit der Chloramin-T-Papierspitze (Testgruppe 2) zu einer Bakterien-Reduktion von 3,0 log-Schritten an der Wurzelkanalwand (ISO 50). Im Vergleich zur NaCl-Kontrolle (Kontrollgruppe 3) wurde in Testgruppe 2 an der Wurzelkanalwand

eine Bakterien-Reduktion von 2,5 log-Schritten beobachtet. Bei der weiteren Aufbereitung von ISO 50 bis ISO 110 musste allerdings ein deutlicher Verlust der antibakteriellen Effektivität registriert werden.

Die eingesetzte Menge und Applikationsform scheint somit in der zweiten Testgruppe deutlich weniger geeignet, eine mit der Testgruppe 1 vergleichbare, ausreichend effektive Wirkung des Chloramin-T in der Tiefe der Dentintubuli zu erreichen.

Antibakterieller Effekt von Kalziumhydroxid



Baseline **Baseline-Wert vor der Therapie**, d. h. bakterielle Besiedlung der Kanalwand nach 24-stündiger Inkubationszeit mit *E. f.*

ISO 50 bakterielle Besiedlung der **Kanalwand** nach Therapie mit dem jeweiligen Medikament

ISO 60-110 bakterielle Besiedlung der **Dentintubuli** nach Aufbereitung entsprechender ISO-Größe

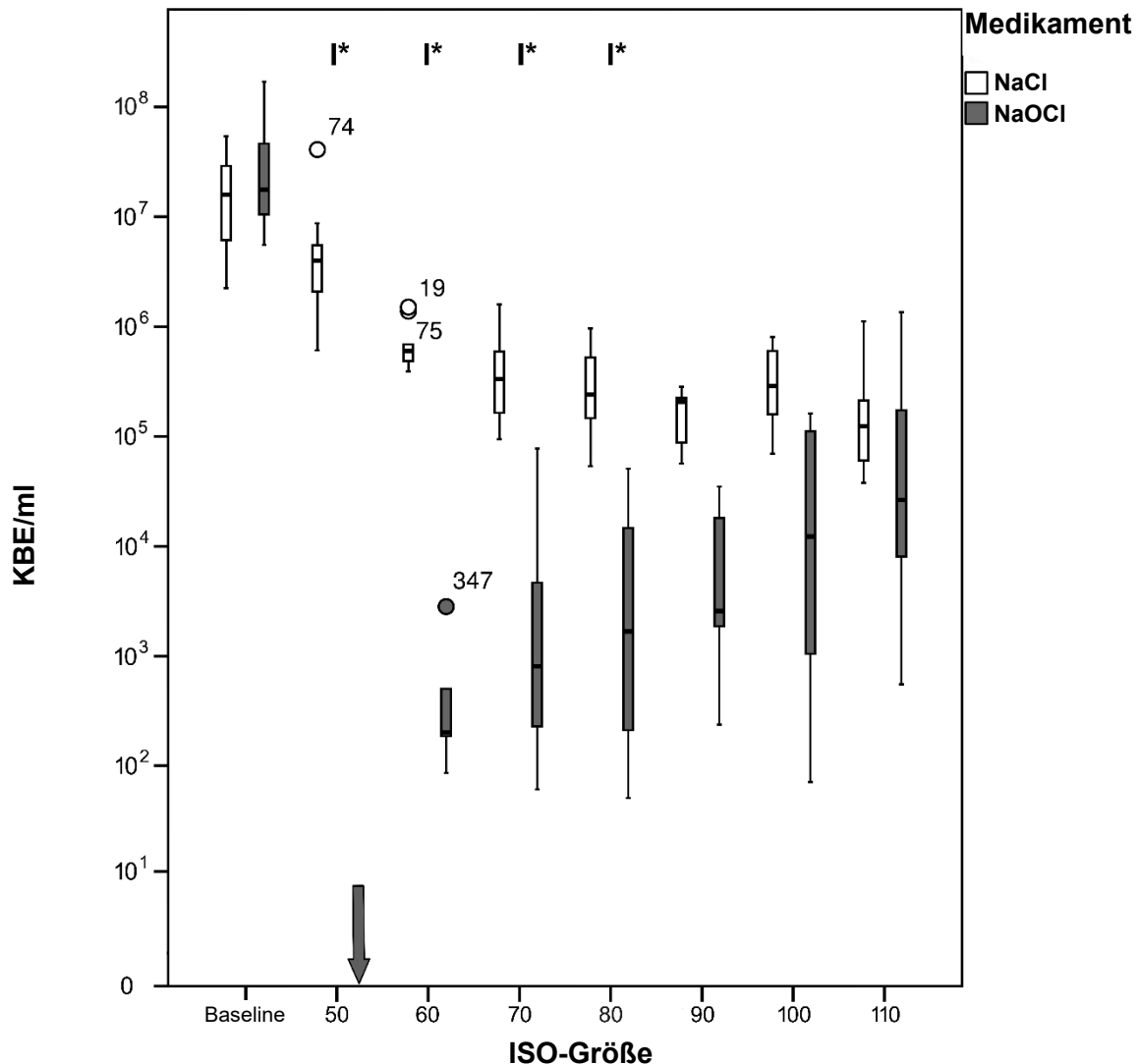
Abb. 8 Antibakterielle Effekte der Gruppen Kalziumhydroxid (Calicur®) und NaCl

Ähnliche Ergebnisse wie die der Testgruppe 2 zeigte die Behandlung mit Kalziumhydroxid (Kontrollgruppe 1). Im Vergleich zum Baseline-Wert führte die Behandlung der infizierten Wurzelkanäle zu einer Bakterien-Reduktion von 3,9 log-Schritten an der Wurzelkanalwand. Im Vergleich zur NaCl-Kontrolle konnte mit

Kalziumhydroxid eine Bakterien-Reduktion von 3,4 log-Schritten bei der ISO-Größe 50 ermittelt werden.

In den Tubuli war eine signifikante Reduktion der Bakterien durch Kalziumhydroxid jedoch nicht nachweisbar.

Antibakterieller Effekt von Natriumhypochlorit



Baseline **Baseline-Wert vor der Therapie**, d. h. bakterielle Besiedlung der Kanalwand nach 24-stündiger Inkubationszeit mit *E. f.*

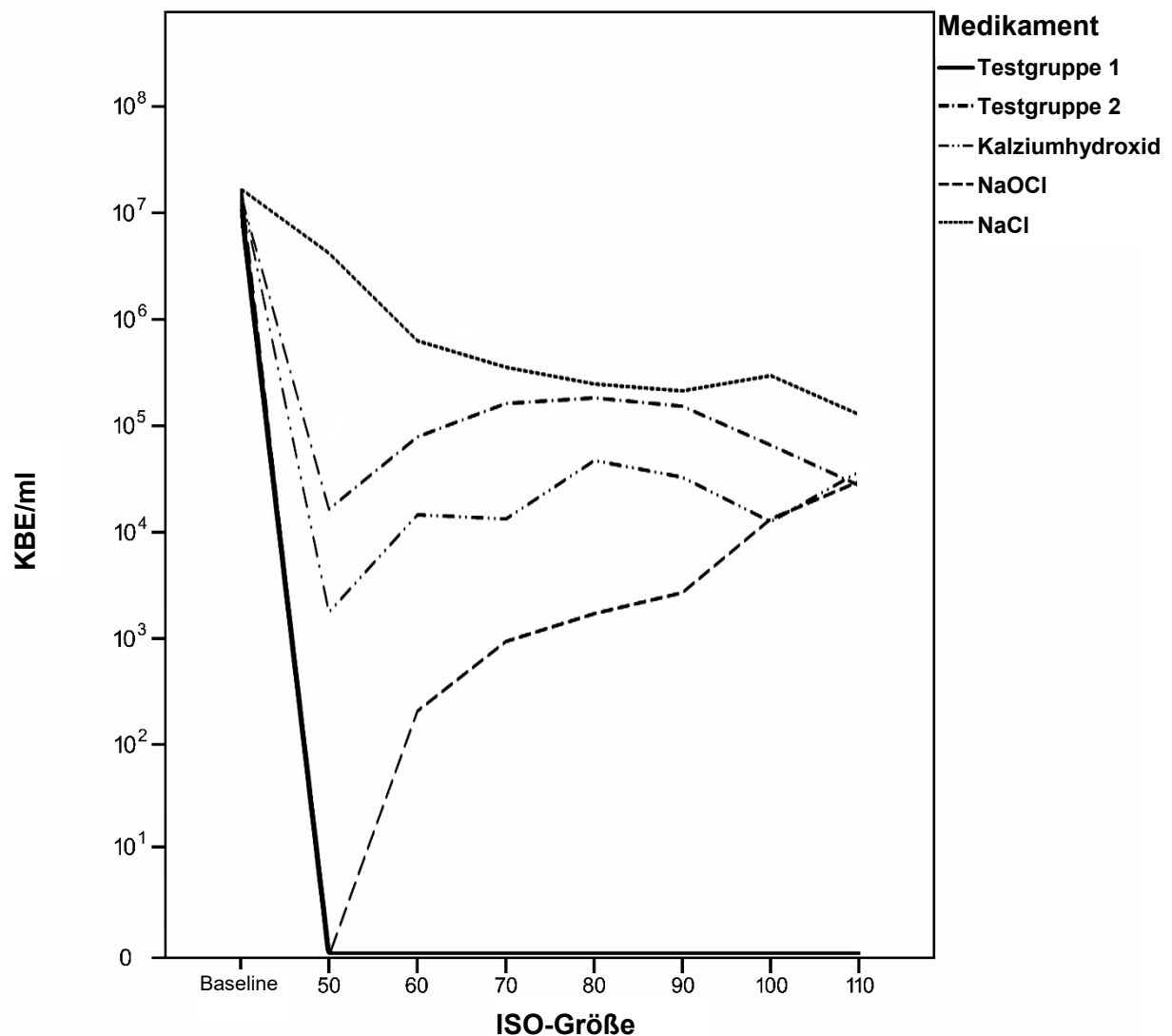
ISO 50 bakterielle Besiedlung der **Kanalwand** nach Therapie mit dem jeweiligen Medikament

ISO 60-110 bakterielle Besiedlung der **Dentintubuli** nach Aufbereitung entsprechender ISO-Größe

Abb. 9 Antibakterielle Effekte der Gruppen NaOCl und NaCl

Die Behandlung mit NaOCl (Kontrollgruppe 2) führte, ebenso wie die vollständige Auffüllung der Wurzelkanäle mit Chloramin-T (Testgruppe 1) zu einer vollständigen Suppression von *E. faecalis* an der Wurzelkanalwand (siehe Pfeil). Allerdings nahm im Gegensatz zu Chloramin-T (Testgruppe 1) in der Kontrollgruppe 2 bei der weiteren Aufbereitung von ISO 50 bis ISO 80 die bakterielle Besiedlung wieder zu.

Vergleich der Test- und Kontrollgruppen



Testgruppe 1	Chloramin-T-Auffüllung
Testgruppe 2	Chloramin-T-Papierspitze
Kontrollgruppe 1	Kalziumhydroxid (Ca(OH) ₂)
Kontrollgruppe 2	Natriumhypochlorit (NaOCl)
Kontrollgruppe 3	Natriumchlorid (NaCl, Negativkontrolle)

Abb. 10 Liniendiagramm zum Vergleich der antibakteriellen Effekte der Gruppen

In der Kontrollgruppe 2 (NaOCl) konnte bei der weiteren Aufbereitung von ISO 90 bis ISO 110 ein Anstieg der bakteriellen Besiedlung bis zum Level der NaCl-Kontrollgruppe beobachtet werden. Die Daten zur Erstellung der Abb. 10 sind Tabelle 5 im Anhang zu entnehmen.

6 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden In-vitro-Studie war es, die antibakterielle Wirksamkeit von Tosylchloramid-Natrium (Chloramin-T) in zwei verschiedenen Applikationsmengen auf *E. faecalis* zu untersuchen. Die antimikrobielle Effektivität von Chloramin-T wurde als medikamentöse Einlage sowohl an der Kanalwand als auch in den Dentintubuli analysiert und mit der Wirkung von Kalziumhydroxid und Natriumhypochlorit als positive und Natriumchlorid als negative Kontrolle verglichen.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse wird eine hohe antimikrobielle Effektivität von Chloramin-T in den Dentinkanälen nachgewiesen.

Das experimentelle Modell der Studie basiert auf einer früher publizierten Untersuchung der Jenaer Arbeitsgruppe (Ossmann et al. 2015) und bezieht sich auf die Arbeiten von Haapasalo und Orstavik (Haapasalo und Orstavik 1987). Im Gegensatz zu dieser Publikation wurden in vorliegender Studie keine Rinderzähne, sondern extrahierte humane dritte Molaren verwendet, deren Durchmesser und Kanalvolumen kleiner ist als der der Rinderzähne (Lenet et al. 2000), sodass die antibakterielle Wirkung der Versuchs-Gruppen praxisnah evaluiert werden konnte.

Die extrahierten Zähne wurden standardisiert selektiert und vorbereitet. Es erfolgte eine Einkürzung der Wurzelkanäle auf eine Länge von 10 mm und eine anschließende Aufbereitung mit Reamern bis zur ISO-Größe 50. Vor dem Einbringen des jeweiligen Medikaments bzw. der Spülung des Wurzelkanals wurden die vorbereiteten Zähne in einer feuchten Kammer bei 121 °C für 20 Minuten autoklaviert.

Die Bereitstellung der Suspension zur Inokulation der Zähne erfolgte entsprechend vorgegebener Richtlinien. So diente zur Kalibrierung, im Hinblick auf die Zahl der Mikroorganismen, der McFarland-Standard 0,5 (= 5×10^5 KBE/ml) (Wiegand et al. 2008, Griebisch 2014).

Es konnte nachgewiesen werden, dass *E. faecalis* vom zentralen Wurzelkanal aus innerhalb von 48 Stunden mindestens 300 µm in die Dentintubuli eindringt. Auch in früheren Untersuchungen wurde bereits vermutet, dass *E. faecalis* 151 bis 420 µm tief in das menschliche Wurzeldentin penetrieren kann (Gomes et al. 2003, Schafer

und Bossmann 2005, de Lucena et al. 2013, Ossmann et al. 2015). *E. faecalis* ist wahrscheinlich in der Lage, speziell durch die Bindung an Kollagen Typ I-Fasern (Love 2001) in der Tiefe der Dentintubuli zu persistieren und sich dort auch zu vermehren (Gomes et al. 2001, Sigusch et al. 2014).

Die Penetrationstiefe von *E. faecalis* steigt mit Zunahme der Inkubationszeit und ebenso mit der Bakterienanzahl an. Im zervikalen Wurzelkanaldrittel befinden sich zumeist mehr Bakterien als im mittleren und apikalen Drittel. Außerdem ermöglichte in der vorliegenden In-vitro-Arbeit die Spülung mit EDTA vor der Inokulation mit *E. faecalis* ein besonders tiefes Eindringen der Mikroorganismen in die Dentintubuli, da auf diesem Weg zuvor die Schmierschicht beseitigt wurde (Peters et al. 2000).

Die Fähigkeit von *E. faecalis* zur Formierung eines Biofilms stellt einen wesentlichen Virulenz-Faktor dar. Durch den Biofilm wird die Adhärenz der Mikroorganismen an die Wurzelkanalwand zusätzlich begünstigt, wodurch sich auch die bakterielle Resistenz gegenüber antimikrobiellen Medikamenten bis zu 1000-fach erhöht (Lorenz 1961, Talebi et al. 2015).

Die Freisetzung extrazellulärer Signalmoleküle und deren Interaktion mit dem Empfänger-molekül der Zielzelle ermöglicht den Mikroorganismen die Expression von Virulenzfaktoren und damit die Resistenzentwicklung gegenüber Antibiotika (Dunny und Leonard 1997, Müller-Esterl 2009). Durch diese Zell-Zell-Kommunikation sind die Bakterien in besonderem Maße robust in der Auseinandersetzung mit der körpereigenen Immunabwehr (Ganesh et al. 2015).

E. faecalis ist so in der Lage, sich der antibakteriellen Wirkung konventioneller Spülungen und medikamentöser Einlagen zu entziehen. Aus diesem Grund spielt diese Spezies auch häufig bei sekundären endodontischen Infektionen eine große Rolle (Siren et al. 1997, de Paula et al. 2014), bei denen Mikroorganismen isoliert werden, die an der primären Infektion nicht beteiligt waren, sondern während der Wurzelkanalbehandlung oder nach Abschluss der Aufbereitung in das Kanalsystem gelangt sind (Jose F 2006). In infizierten Wurzelkanälen mit therapieresistenten periradikulären Läsionen wurde *E. faecalis* am häufigsten isoliert (Zoletti et al. 2006). Eine Monoinfektion mit *E. faecalis*, wie in dieser Studie unter In-vitro-Bedingungen simuliert, ist somit durchaus von klinischer Relevanz, da diese Spezies bei sekundären Infektionen besonders häufig nachgewiesen werden kann (Pinheiro et al. 2003, Figdor und Sundqvist 2007). Die Wirkung von Chloramin-T auf die Spezies *E. faecalis* als Teil einer Mischflora bleibt weiterführenden Untersuchungen vorbehalten.

In der vorliegenden Untersuchung kam Kalziumhydroxid als antibakteriell wirksames Medikament der positiven Kontrollgruppe 1 zur Anwendung, da es bisher als eines der meist empfohlenen Präparate zur Behandlung infizierter Wurzelkanäle gilt (Siqueira und Lopes 1999, Estrela et al. 2001).

Durch die Dissoziation in Kalzium und eine Hydroxyl-Gruppe zerstört es die Lipopolysaccharide der Bakterienzellwand (Siqueira und Lopes 1999). Allerdings wird häufig nur eine unzureichende Wirkung auf *E. faecalis* beobachtet (Flahaut et al. 1997, Evans et al. 2002, Schafer und Bossmann 2005).

Dies stützt die Ergebnisse unserer Untersuchung, da weder an der Kanalwand noch in den Tubuli eine vollständige Suppression von *E. faecalis* erreicht werden konnte.

Die Einwirkzeit von Kalziumhydroxid betrug im Rahmen der Untersuchung der Kontrollgruppe 1 24 Stunden.

Gomes et al. beobachteten, dass selbst durch eine Kalziumhydroxid-Verweildauer von 15 Tagen das *E. faecalis*-Wachstum nicht verhindert werden konnte (Gomes et al. 2003). Andere Autoren schlagen, basierend auf einer In-vivo-Untersuchung, eine Einwirkphase von sieben Tagen vor (Sjogren et al. 1991). Eine optimale Liegedauer für eine bestmögliche antibakterielle Wirkung konnte bisher nicht eruiert werden (Awawdeh et al. 2009). Somit kann man davon ausgehen, dass ein verlängertes Einwirken hier kaum zu einer signifikanten Verbesserung der antibakteriellen Wirksamkeit geführt hätte.

Möglicherweise könnte die antibakterielle Wirkung von Kalziumhydroxid in der vorliegenden Untersuchung durch die Anwesenheit von Dentinspänen reduziert worden sein, da in einer anderen Studie gezeigt wurde, dass diese auch CHX neutralisieren können (Portenier et al. 2006). Durch die Spülungen mit Calcinase und destilliertem Wasser nach Abschluss der initialen Aufbereitung bis zur ISO-Größe 50, sollten die Dentinspäne reduziert werden, andererseits ist nicht auszuschließen, dass durch den Verbleib kleinster Dentinpartikel die Wirkung des Kalziumhydroxid-Präparates verringert wurde.

Allerdings bestätigen auch andere Studien, dass es mit Kalziumhydroxid nicht möglich ist, *E. faecalis* in den Dentintubuli ausreichend zu supprimieren (Haapasalo und Orstavik 1987, Orstavik und Haapasalo 1990, Siqueira und de Uzeda 1996, Siren et al. 2004).

Im Vergleich dazu konnte durch die Anwendung von Natriumhypochlorit in der positiven Kontrollgruppe 2 eine komplette Suppression von *E. faecalis* an der Kanalwand beobachtet werden. Ähnliche Ergebnisse finden sich auch in anderen Studien (Hubbezoglu et al. 2014, Sahebi et al. 2014). Diese Untersuchungen zeigen, ebenso wie die vorliegende Arbeit, dass allerdings auch durch NaOCl das Wachstum von *E. faecalis* in den Dentintubuli nicht verhindert werden kann.

Die antibakterielle Wirksamkeit von Natriumhypochlorit wird, ähnlich wie die vom Kalziumhydroxid, wahrscheinlich durch den hohen pH-Wert verursacht (Estrela et al. 1995). Nach der Anwendung von NaOCl kommt es zur Lipid-Peroxidation mit Schädigung der zytoplasmatischen Membranen, aber auch zu biosynthetischen Veränderungen des zellulären Metabolismus durch entstehende Chloramine (Buttler und Crawford 1982, Estrela et al. 2002).

Die Wirkung von NaOCl kann durch eine längere Einwirkzeit, eine größere Menge, die Erhöhung der Temperatur der Lösung und eine höhere Konzentration etwas verbessert werden (Andersen et al. 1992).

In der vorliegenden Untersuchung wurden die infizierten Kanäle analog der gängigen klinischen Anwendung für etwa 20 Sekunden mit NaOCl gespült. Gegenüber dieser konventionellen Spülmethode könnte mit Ultraschall die Kontaktzeit der angewendeten Spüllösung zum infizierten Dentin verlängert und gekrümmte Kanäle, Seitenäste und Anastomosen im Bereich der Dentintubuli besser erreicht werden (Horiba et al. 1990). So ergibt sich bei der Anwendung von NaOCl mehr Zeit für die Freisetzung des verfügbaren Chlors (Macedo et al. 2014, Verhaagen et al. 2014). Diese Methodik findet in der modernen Endodontologie zunehmend Anwendung. Allerdings ist auch eine Ultraschallspülung mit NaOCl nicht ausreichend in der Lage, *E. faecalis* vollständig im Wurzelkanalsystem zu supprimieren und damit die Resultate unserer Untersuchungen der Testgruppe 1, der Chloramin-T-Auffüllung, zu erreichen (Guerreiro-Tanomaru et al. 2015).

In einer älteren Untersuchung wurde die Temperatur einer 2,6 %igen NaOCl-Lösung von 22°C auf 37°C erhöht, wodurch sich eine signifikant kürzere Eliminationszeit von Mikroorganismen ergab (Cunningham und Joseph 1980). Eine vorherige Erwärmung des NaOCl hätte in vorliegender Studie möglicherweise eine verbesserte antibakterielle Effektivität bewirkt. Allerdings konnte in einer anderen Studie gezeigt werden, dass zur vollständigen Auflösung von 6,5 mg Pulpa-Gewebes bei der

Anwendung einer 2 %igen NaOCl-Lösung auch bei 37°C eine lange Einwirkzeit von bis zu zweieinhalb Stunden benötigt wird (Andersen et al. 1992).

In der vorliegenden Studie wurde eine 1,5 %ige NaOCl-Lösung verwendet. Eine Erhöhung dieser Konzentration hätte allerdings vermutlich keine komplette Suppression von *E. faecalis* bewirkt. Untersuchungen an extrahierten und mit *E. faecalis* inokulierten Zähnen zeigten nach der Verwendung von NaOCl-Lösungen in Konzentrationen von 0,2 % bis 5,25 % stets ähnlich starke Reduktionen der Bakterienzahlen wie in der vorliegenden Arbeit, allerdings konnte auch so keine vollständige Suppression erreicht werden (Vahdaty et al. 1993, Siqueira et al. 2000).

Die mangelnde Tiefenwirkung des NaOCl gegenüber Chloramin-T in der vorliegenden Studie ließe sich möglicherweise durch eine Modifikation der Applikations- und Einwirkzeit, Temperatur und der Konzentration der Spüllösung verbessern. Jedoch wäre auch mit diesen Modifikationen laut vorliegender Datenlage die vollständige Suppression von *E. faecalis*, wie sie für das Chloramin-T in der Testgruppe 1 beobachtet wurde, nicht zu erwarten.

Allerdings könnte eine Kombination der Medikamente der beiden Positivkontrollgruppen, d. h. der medikamentösen Einlage Kalziumhydroxid und der Kanalspülung NaOCl mit dem Ziel einer Elimination von *E. faecalis* bis in die Dentintubuli denkbar sein, zumal diese Kombination klinisch bei der endodontischen Therapie infizierter Wurzelkanäle bereits Anwendung findet.

Es wurde jedoch auch festgestellt, dass durch eine kombinierte Anwendung von NaOCl-Spülungen mit den basischen Wurzelkanal-Medikamenten wie Kalziumhydroxid, kein synergistischer Effekt erzielt werden kann, und sich somit die Wirkung der beiden Agenzien nicht potenzieren lässt (Ma et al. 2015).

In vorliegender Studie gelang es nur durch den Einsatz des Desinfiziens Chloramin-T eine vollständige Suppression von *E. faecalis* in allen untersuchten Dentintiefen zu erreichen. Trotz einer relativ kurzen Einwirkzeit dieser Substanz konnte in der Testgruppe 1, eine im Vergleich zu Kalziumhydroxid und NaOCl deutlich höhere Desinfektionswirkung beobachtet und *E. faecalis* vollständig supprimiert werden.

Das weiße, kristalline Chloramin-T- Pulver entsteht durch die Reaktion von Chlor mit stickstoffhaltigen Verbindungen (Milroy 1916, Schiller et al. 1997). Bei der

Dissoziation von Chloramin-T in Wasser löst sich diese Bindung und es entsteht NaOCl (Milroy 1916). Wie beim Natriumhypochlorit ist auch hier das wirksame Agens die hypochlorige Säure (Peters J. 1988) (HOCl, Abb. 11).

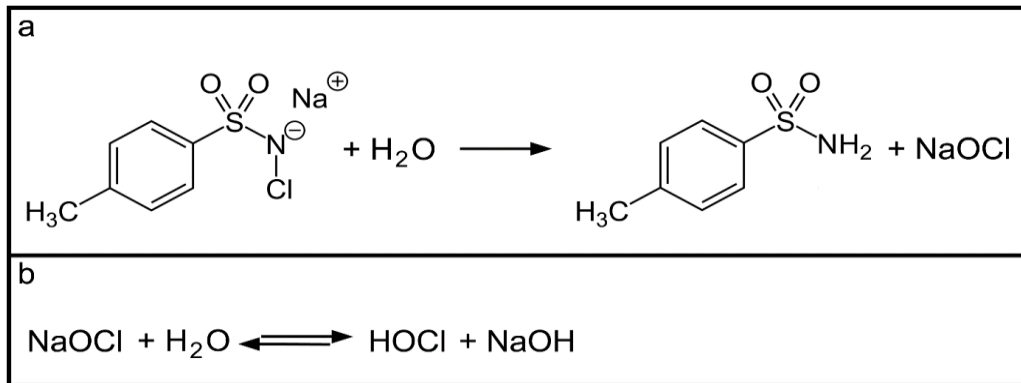


Abb. 11 Dissoziationsreaktionen von Chloramin-T (a) und NaOCl (b)

Bei der Dissoziation von Chloramin-T erfolgt im Gegensatz zu NaOCl eine deutlich langsamere Freisetzung des reaktiven Chlors, welches anschließend für weitere Reaktionen zur Verfügung steht. So kann sich offenbar die antibakterielle Aktivität entsprechend verlängern (Kloth et al. 2007).

Bei diesem Vorgang werden durch die Oxidationsreaktion Mikroorganismen wie *E. faecalis* irreversibel geschädigt und Resistenzentwicklungen sind praktisch ausgeschlossen (Stralfors et al. 1967).

Bei optimaler Konzentration der hypochlorigen Säure liegt der ideale pH-Wert für eine effektive Desinfektion bei etwa 6 (Rutala und Weber 1997). Ein Absinken des pH-Wertes führt zum sogenannten Ausgasen von Chlorgas.

Dieses ist eine sehr starke Noxe, die schon in minimalsten Konzentrationen reizend auf den Respirationstrakt, die Augen und Mukosa wirkt (Baumgartner und Ibay 1987).

Um den antibakteriellen Effekt nicht zu reduzieren, sollten Chloramin-T und NaOCl während einer endodontischen Behandlung daher nicht alternierend mit einer Zitronensäure-Spülung verwendet werden.

Bei einem höheren pH-Wert steht ebenso nur eine kleinere Menge der hypochlorigen Säure und damit des wirksamen Agens zur Verfügung. Aus diesem Grund sollte möglichst die alternierende Anwendung von Chloramin-T und Kalziumhydroxid-Präparaten (pH-Wert 11-12,6) nicht ohne neutralisierende Zwischenspülung erfolgen.

Die klinische Situation wird oft zusätzlich durch multiple Faktoren beeinflusst. So kann beispielsweise im Kanal befindliche Debris in doppelter Hinsicht zum Überleben von *E. faecalis* beitragen. Einerseits dienen diese Reste als Energiequelle der Bakterien und andererseits reduziert es die Wirksamkeit von NaOCl (Love 2001).

Es ist bereits seit vielen Jahren bekannt, dass, auf etwa gleiche Mengen verfügbaren Chlors bezogen, Natriumhypochlorit in Gegenwart von organischem Material weniger wirksam ist als das Chloramin-T (Peters J. 1988). In der vorliegenden Studie könnte dies für den deutlich suppressiven Effekt von Tosylchloramid-Natrium auf die Spezies *E. faecalis* sprechen.

Die Effektivität des Chloramin-T wird nicht so stark durch organisches Material, wie Reste der Pulpa oder Debris beeinträchtigt (Peters J. 1988). Im Vergleich zu Natriumhypochlorit weist es eine verzögerte Dissoziation auf, dringt ohne eine vorherige chemische Reaktion primär tiefer in die Dentintubuli ein und dissoziiert erst dort.

Im Falle von NaOCl nimmt hingegen bei Kontakt mit Bakterien oder organischem Material nach bereits etwa ein bis zwei Minuten die gewebeauflösende und antimikrobielle Wirkung ab mit der Folge, dass in tiefen Dentinschichten für die antibakterielle Wirkung wahrscheinlich nicht ausreichend aktives Chlor zur Verfügung steht (Peters J. 1988).

Eine Erhöhung der Konzentration könnte für Chloramin-T die Wirksamkeit noch weiter verbessern, da auf diese Weise mehr hypochlorige Säure zur Verfügung stehen würde. Allerdings wird die Anwendung von Konzentrationen hypochloriger Lösungen über 1 % in der Praxis nicht empfohlen, da dadurch das Risiko der Schädigung periradikulären Gewebes ansteigt (Zehnder 2006).

Bei der Verwendung von Chloramin-T bis zu einer Konzentration von 2 % konnte keine Zytotoxizität bei guter antibakterieller Effektivität nachgewiesen werden (Tirapelli et al. 2010), während bei der Anwendung von 5 %igem Chloramin-T in einer Studie ein zytotoxischer Effekt auf Epithelzellen beobachtet wurde (Wennberg 1980).

Beim Vergleich der Ergebnisse beider Testgruppen ergab sich folgendes. Während die Testgruppe 1 mit der vollständigen Chloramin-T-Auffüllung den Kontrollgruppen durch die Suppression von *E. faecalis* signifikant überlegen war, konnte in Testgruppe 2 mit Chloramin-T an der befeuchteten Papierspitze nur eine signifikant

höhere Wirksamkeit gegenüber der NaCl-Kontrollgruppe im Bereich der Kanalwand nachgewiesen werden. Die eingesetzte Menge des Chloramin-T scheint ein wichtiger Faktor für den antibakteriellen Effekt auf *E. faecalis* zu sein.

Ein Vergleich der in der vorliegenden Studie nachgewiesenen antibakteriellen Wirkung von Chloramin-T im Wurzelkanal mit ähnlichen Untersuchungen ist relativ schwer, da die Datenlage bisher wenig ergiebig ist.

An der Jenaer Klinik wird diese Substanz aber bereits seit 1973 untersucht und auch klinisch eingesetzt. Bei der Behandlung der Gangrän kann Chloramin-T beispielsweise zum Abklingen der Symptome der akuten apikalen Parodontitis führen (Reichardt 1973b, Reichardt 1973a).

Wang et al. gehen davon aus, dass schon 2 % iges Chloramin-T bezüglich der Wirkung auf *E. faecalis* etwa mit der von 2,5 % igem NaOCl vergleichbar ist (Wang et al. 2007).

In der vorliegenden Studie konnten durch Chloramin-T in unverdünnter Form und NaOCl nur an der Kanalwand vergleichbare antibakterielle Effekte erzielt werden. Mit beiden Substanzen ist man in der Lage, *E. faecalis* dort vollständig zu supprimieren. In seiner Tiefenwirkung im Bereich der Dentintubuli zeigt sich dann Chloramin-T, nach vollständiger Auffüllung des Kanals, im antibakteriellen Effekt dem NaOCl eindeutig überlegen.

In einer anderen Untersuchung bestätigte sich anhand von licht- und elektronenmikroskopischen Analysen ebenfalls, dass Chloramin-T in der Lage ist bis in die Dentintubuli vorzudringen (Qi 1991).

Auch im Rahmen der Untersuchungen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass *E. faecalis* bis zu 300 µm in die Dentintubuli penetriert und dass Chloramin-T speziell dort einen besseren antibakteriellen Effekt auf *E. faecalis* entfaltet als die bisher als Goldstandard geltenden Präparate wie Kalziumhydroxid und Natriumhypochlorit.

Aus diesem Grund könnte sich Chloramin-T, nach entsprechenden klinischen Untersuchungen, für die Behandlung infizierter Wurzelkanäle zukünftig als eine suffiziente Alternative zur antimikrobiellen Desinfektion des Wurzelkanals etablieren.

7 Schlussfolgerungen

Die Voraussetzung für eine erfolgreiche endodontische Behandlung ist die vollständige Elimination von Mikroorganismen aus dem Wurzelkanalsystem.

Bei sekundären Infektionen dominiert häufig die grampositive, fakultativ anaerobe Spezies *Enterococcus faecalis* und beeinträchtigt durch seine Robustheit gegenüber zahlreichen antibakteriellen Agenzien häufig den Therapieerfolg.

Ein Grund hierfür könnte das in vorliegender Studie nachgewiesene Potential der Spezies *E. faecalis* sein, sich in Tiefen von bis zu 300 µm im tubulären Dentin zu etablieren. Dort entziehen sich die Keime der antibakteriellen Wirkung der meisten derzeit klinisch eingesetzten Wurzelkanal desinfizierenden.

Mit dem gewählten In-vitro-Modell konnte gezeigt werden, dass *E. faecalis* vom infizierten Wurzelkanal aus in die Dentintubuli penetriert und sich dort manifestiert. So war es möglich, die antimikrobiellen Eigenschaften der Medikamente des Wurzelkanals praxisnah zu untersuchen.

Die Ergebnisse der vorliegenden In-vitro-Studie ergeben eine vollständige Suppression von *E. faecalis* durch die Applikation von Chloramin-T, nach vollständiger Auffüllung des Wurzelkanals und einer intrakanalären Verweildauer von 24 h.

Kalziumhydroxid (positive Kontrollgruppe 1) scheint sich hingegen nicht zur Suppression dieser Spezies zu eignen, da mit zunehmender Dentintiefe eine signifikante Abnahme der Wirksamkeit festgestellt wurde.

Eine Spülung mit Natriumhypochlorit (positive Kontrollgruppe 2) kann *E. faecalis* lediglich an der Wurzelkanalwand vollständig supprimieren. Bereits ab einer Dentintiefe von 50 µm waren nach der Irrigation mit NaOCl noch Mikroorganismen nachweisbar.

Das Auffüllen infizierter Wurzelkanäle mit Chloramin-T stellt somit nach den Ergebnissen der vorliegenden In-vitro-Studie eine potentielle Alternative zu den bereits etablierten, jedoch gegen *E. faecalis* offenbar nicht ausreichend wirksamen, Medikamenten zur Desinfektion des Wurzelkanals dar.

Weiterführende In-vivo-Untersuchungen sind nötig, um in Zukunft einen sicheren klinischen Einsatz von Chloramin-T zu ermöglichen.

8 Referenzen

- Abou-Rass M, Oglesby SW. 1981. The effects of temperature, concentration, and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. *J Endod*, 7 (8):376-377.
- Alsamadani KH, Abdaziz el SM, Gad el S. 2012. Influence of different restorative techniques on the strength of endodontically treated weakened roots. *Int J Dent*, 2012:343712.
- AlShwaimi E, Bogari D, Ajaj R, Al-Shahrani S, Almas K, Majeed A. 2016. In Vitro Antimicrobial Effectiveness of Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis*: A Systematic Review. *J Endod*, 42 (11):1588-1597.
- Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM. 1992. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol*, 8 (3):104-108.
- Arias CA, Contreras GA, Murray BE. 2010. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect*, 16 (6):555-562.
- Athanassiadis B, Abbott PV, George N, Walsh LJ. 2010. An in vitro study of the antimicrobial activity of some endodontic medicaments against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Aust Dent J*, 55 (2):150-155.
- Athanassiadis M, Jacobsen N, Nassery K, Parashos P. 2013. The effect of calcium hydroxide on the antibiotic component of Odontopaste and Ledermix paste. *Int Endod J*, 46 (6):530-537.
- Attin T, Buchalla W, Zirkel C, Lussi A. 2002. Clinical evaluation of the cleansing properties of the noninstrumental technique for cleaning root canals. *Int Endod J*, 35 (11):929-933.
- Awawdeh L, Al-Beitawi M, Hammad M. 2009. Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: a laboratory study. *Aust Endod J*, 35 (2):52-58.
- Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S. 1975. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod*, 1 (4):127-135.
- Barnett F, Trope M, Khoja M, Tronstad L. 1985. Bacteriologic status of the root canal after sonic, ultrasonic and hand instrumentation. *Endod Dent Traumatol*, 1 (6):228-231.
- Baumgartner JC, Ibay AC. 1987. The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. *J Endod*, 13 (2):47-51.
- Bradford CE, Eleazer PD, Downs KE, Scheetz JP. 2002. Apical pressures developed by needles for canal irrigation. *J Endod*, 28 (4):333-335.
- Buttler TK, Crawford JJ. 1982. The detoxifying effect of varying concentrations of sodium hypochlorite on endotoxins. *J Endod*, 8 (2):59-66.
- Bystrom A, Sundqvist G. 1981. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*, 89 (4):321-328.
- Bystrom A, Sundqvist G. 1983. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 55 (3):307-312.
- Bystrom A, Happonen RP, Sjogren U, Sundqvist G. 1987. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. *Endod Dent Traumatol*, 3 (2):58-63.
- Chestnutt IG, MacFarlane TW, Stephen KW. 1994. An in vitro investigation of the cariogenic potential of oral streptococci. *Arch Oral Biol*, 39 (7):589-593.

- Chow TW. 1983. Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *J Endod*, 9 (11):475-479.
- Cullen GE, Taylor HD. 1918. RELATIVE IRRITANT PROPERTIES OF THE CHLORINE GROUP OF ANTISEPTICS. *J Exp Med*, 28 (6):681-699.
- Cunningham WT, Balekjian AY. 1980. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 49 (2):175-177.
- Cunningham WT, Joseph SW. 1980. Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 50 (6):569-571.
- D'Alo S, De Pasquale T, Incorvaia C, Illuminati I, Mistrello G, Roncarolo D, Pucci S. 2012. Chloramine-induced anaphylaxis while showering: a case report. *J Med Case Rep*, 6:324.
- de Lucena JM, Decker EM, Walter C, Boeira LS, Lost C, Weiger R. 2013. Antimicrobial effectiveness of intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis*: chlorhexidine versus octenidine. *Int Endod J*, 46 (1):53-61.
- de Paula VA, de Carvalho Ferreira D, Cavalcante FS, do Carmo FL, Rosado AS, Primo LG, dos Santos KR. 2014. Clinical signs and bacterial communities of deciduous necrotic root canals detected by PCR-DGGE analysis: research association. *Arch Oral Biol*, 59 (8):848-854.
- Du T, Wang Z, Shen Y, Ma J, Cao Y, Haapasalo M. 2014. Effect of long-term exposure to endodontic disinfecting solutions on young and old *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *J Endod*, 40 (4):509-514.
- Dunny GM, Leonard BA. 1997. Cell-cell communication in gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 51:527-564.
- Elakanti S, Cherukuri G, Rao VG, Chandrasekhar V, Rao AS, Tummala M. 2015. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of QMix 2 in 1, sodium hypochlorite, and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *J Conserv Dent*, 18 (2):128-131.
- Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Junior O. 1995. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J*, 6 (2):85-90.
- Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pecora JD. 2001. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J*, 34 (5):341-345.
- Estrela C, Estrela CR, Decurcio DA, Hollanda AC, Silva JA. 2007. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J*, 40 (2):85-93.
- Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. 2002. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J*, 13 (2):113-117.
- Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. 2002. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*, 35 (3):221-228.
- Figdor D. 2004. Microbial aetiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species. *Aust Endod J*, 30 (1):11-14.
- Figdor D, Sundqvist G. 2007. A big role for the very small--understanding the endodontic microbial flora. *Aust Dent J*, 52 (1 Suppl):S38-51.
- Flahaut S, Hartke A, Giard JC, Auffray Y. 1997. Alkaline stress response in *Enterococcus faecalis*: adaptation, cross-protection, and changes in protein synthesis. *Appl Environ Microbiol*, 63 (2):812-814.

- Fouad AF, Zerella J, Barry J, Spangberg LS. 2005. Molecular detection of *Enterococcus* species in root canals of therapy-resistant endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 99 (1):112-118.
- Fuss Z, Mizrahi A, Lin S, Cherniak O, Weiss EI. 2002. A laboratory study of the effect of calcium hydroxide mixed with iodine or electrophoretically activated copper on bacterial viability in dentinal tubules. *Int Endod J*, 35 (6):522-526.
- Ganesh A, Nagendrababu V, John A, Deivanayagam K. 2015. The Effect of Addition of an EPS Degrading Enzyme with and without Detergent to 2% Chlorhexidine on Disruption of *Enterococcus faecalis* Biofilm: A Confocal Laser Scanning Microscopic Study. *J Clin Diagn Res*, 9 (11):Zc61-65.
- George M, Ivancakova R. 2007. Root canal microflora. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 50 (1):7-15.
- Gold OG, Jordan HV, van Houte J. 1975. The prevalence of enterococci in the human mouth and their pathogenicity in animal models. *Arch Oral Biol*, 20 (7):473-477.
- Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. 2001. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 34 (6):424-428.
- Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. 2003. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J*, 36 (4):267-275.
- Gomes BP, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. 2004. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol*, 19 (2):71-76.
- Gowda NM, Trieff NM, Stanton GJ. 1981. Inactivation of poliovirus by chloramine-T. *Appl Environ Microbiol*, 42 (3):469-476.
- Griebsch A. 2014. Studie zum Einfluss von Gramicidin S auf oralpathogene Bakterienspezies im Wurzelkanal. Jena.
- Guerreiro-Tanomaru JM, Chavez-Andrade GM, Faria-Junior NB, Watanabe E, Tanomaru-Filho M. 2015. Effect of Passive Ultrasonic Irrigation on *Enterococcus faecalis* from Root Canals: An Ex Vivo Study. *Braz Dent J*, 26 (4):342-346.
- Haapasalo M, Orstavik D. 1987. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res*, 66 (8):1375-1379.
- Hand RE, Smith ML, Harrison JW. 1978. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*, 4 (2):60-64.
- Harrison AJ, Chivatxaranukul P, Parashos P, Messer HH. 2010. The effect of ultrasonically activated irrigation on reduction of *Enterococcus faecalis* in experimentally infected root canals. *Int Endod J*, 43 (11):968-977.
- Hasheminia M, Razavian H, Mosleh H, Shakerian B. 2017. In vitro evaluation of the antibacterial activity of five sealers used in root canal therapy. *Dent Res J (Isfahan)*, 14 (1):62-67.
- Hermann P. 2004. *Hunnius, Pharmazeutisches Wörterbuch*. 9 Aufl. Berlin: Walter de Gruyter.
- Heyder M, Kranz S, Volpel A, Pfister W, Watts DC, Jandt KD, Sigusch BW. 2013. Antibacterial effect of different root canal sealers on three bacterial species. *Dent Mater*, 29 (5):542-549.

- Horiba N, Maekawa Y, Matsumoto T, Nakamura H. 1990. A study of the distribution of endotoxin in the dentinal wall of infected root canals. *J Endod*, 16 (7):331-334.
- Hou XM, Su Z, Hou BX. 2017. Post endodontic pain following single-visit root canal preparation with rotary vs reciprocating instruments: a meta-analysis of randomized clinical trials. *BMC Oral Health*, 17 (1):86.
- Hubbezoglu I, Zan R, Tunc T, Sumer Z. 2014. Antibacterial Efficacy of Aqueous Ozone in Root Canals Infected by *Enterococcus faecalis*. *Jundishapur J Microbiol*, 7 (7):e11411.
- Imura N, Pinheiro ET, Gomes BP, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. 2007. The outcome of endodontic treatment: a retrospective study of 2000 cases performed by a specialist. *J Endod*, 33 (11):1278-1282.
- Jose F SJ, Rocas IN. 2006. Mikrobiologie endodontischer Infektionen. *Endodontie*.
- Kakoli P, Nandakumar R, Romberg E, Arola D, Fouad AF. 2009. The effect of age on bacterial penetration of radicular dentin. *J Endod*, 35 (1):78-81.
- Kayaoglu G, Erten H, Bodrumlu E, Orstavik D. 2009. The resistance of collagen-associated, planktonic cells of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *J Endod*, 35 (1):46-49.
- Khademi A, Yazdizadeh M, Feizianfard M. 2006. Determination of the minimum instrumentation size for penetration of irrigants to the apical third of root canal systems. *J Endod*, 32 (5):417-420.
- Kim RJ, Kim MO, Lee KS, Lee DY, Shin JH. 2015. An in vitro evaluation of the antibacterial properties of three mineral trioxide aggregate (MTA) against five oral bacteria. *Arch Oral Biol*, 60 (10):1497-1502.
- Kloth LC, Berman JE, Laatsch LJ, Kirchner PA. 2007. Bactericidal and cytotoxic effects of chloramine-T on wound pathogens and human fibroblasts in vitro. *Adv Skin Wound Care*, 20 (6):331-345.
- Kouidhi B, Zmantar T, Mahdouani K, Hentati H, Bakhrouf A. 2011a. Antibiotic resistance and adhesion properties of oral *Enterococci* associated to dental caries. *BMC Microbiol*, 11:155.
- Kouidhi B, Zmantar T, Hentati H, Najjari F, Mahdouni K, Bakhrouf A. 2011b. Molecular investigation of macrolide and Tetracycline resistances in oral bacteria isolated from Tunisian children. *Arch Oral Biol*, 56 (2):127-135.
- Kvist T, Molander A, Dahlen G, Reit C. 2004. Microbiological evaluation of one- and two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a randomized, clinical trial. *J Endod*, 30 (8):572-576.
- Leclercq R. 2009. Epidemiological and resistance issues in multidrug-resistant staphylococci and enterococci. *Clin Microbiol Infect*, 15 (3):224-231.
- Lee SJ, Wu MK, Wesselink PR. 2004. The effectiveness of syringe irrigation and ultrasonics to remove debris from simulated irregularities within prepared root canal walls. *Int Endod J*, 37 (10):672-678.
- Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, Huang J, Grad H, Lawrence HP, Friedman S. 2000. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod*, 26 (11):652-655.
- Lindeboom JA. 2004. [Apical endodontic surgery]. *Ned Tijdschr Tandheelkd*, 111 (4):146-151.
- Lorenz RJ. 1961. [On the effect of pipetting errors on accuracy in the measurement of concentration of virus suspensions]. *Arch Gesamte Virusforsch*, 10:551-559.
- Love RM. 2001. *Enterococcus faecalis*--a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J*, 34 (5):399-405.

- Ma J, Tong Z, Ling J, Liu H, Wei X. 2015. The effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine irrigants on the antibacterial activities of alkaline media against *Enterococcus faecalis*. *Arch Oral Biol*, 60 (7):1075-1081.
- Macedo RG, Verhaagen B, Wesselink PR, Versluis M, van der Sluis LW. 2014. Influence of refreshment/activation cycles and temperature rise on the reaction rate of sodium hypochlorite with bovine dentine during ultrasonic activated irrigation. *Int Endod J*, 47 (2):147-154.
- Milroy TH. 1916. The Action of Hypochlorites and Allied Substances on Proteins, and their Behaviour on Injection. *Biochem J*, 10 (3):453-465.
- Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. 1998. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, 31 (1):1-7.
- Müller-Esterl W. 2009. Biochemie-Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Murray BE. 1990. The life and times of the *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev*, 3 (1):46-65.
- Nair P. 1998. Pathology of apical periodontitis. Oxford: Essential Endodontology.
- Nair PN. 2006. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J*, 39 (4):249-281.
- Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. 2005. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 99 (2):231-252.
- Nair PN, Sjogren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. 1990. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod*, 16 (12):580-588.
- Orstavik D, Haapasalo M. 1990. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*, 6 (4):142-149.
- Ossmann A, Kranz S, Andre G, Volpel A, Albrecht V, Fahr A, Sigusch BW. 2015. Photodynamic killing of *Enterococcus faecalis* in dentinal tubules using mTHPC incorporated in liposomes and invasomes. *Clin Oral Investig*, 19 (2):373-384.
- Peters J. SG. 1988. Zur Eignung von Natriumhypochlorit und Chloramin T für die Flächendesinfektion. *Bundesgesundhbl*, 9 (31):330-335.
- Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. 2000. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J*, 33 (1):28-36.
- Peters LB, Wesselink PR, van Winkelhoff AJ. 2002a. Combinations of bacterial species in endodontic infections. *Int Endod J*, 35 (8):698-702.
- Peters LB, van Winkelhoff AJ, Buijs JF, Wesselink PR. 2002b. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. *Int Endod J*, 35 (1):13-21.
- Peters OA. 2004. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod*, 30 (8):559-567.
- Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. 2003. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol*, 18 (2):100-103.
- Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. 2006. Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. *J Endod*, 32 (2):138-141.

- Qi P. 1991. [An experimental study on cleaning efficacy of several root canal irrigants]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 26 (4):205-207, 253.
- Ran S, He Z, Liang J. 2013. Survival of *Enterococcus faecalis* during alkaline stress: changes in morphology, ultrastructure, physiochemical properties of the cell wall and specific gene transcripts. *Arch Oral Biol*, 58 (11):1667-1676.
- Reichardt R. 1973a. [Delayed results of suction irrigation therapy of infected root canals in chronic periapical periodontopathies. II]. *Quintessenz*, 24 (6):35-42.
- Reichardt R. 1973b. [Late results of suction-irrigation therapy of infected root canals and chronic periapical periodontopathies. I]. *Quintessenz*, 24 (5):51-54 contd.
- Rocas IN, Siqueira JF, Jr. 2013. Detection of antibiotic resistance genes in samples from acute and chronic endodontic infections and after treatment. *Arch Oral Biol*, 58 (9):1123-1128.
- Rutala WA, Weber DJ. 1997. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev*, 10 (4):597-610.
- Sahebi S, Khosravifar N, Sedighshamsi M, Motamedifar M. 2014. Comparison of the antibacterial effect of sodium hypochlorite and aloe vera solutions as root canal irrigants in human extracted teeth contaminated with *enterococcus faecalis*. *J Dent (Shiraz)*, 15 (1):39-43.
- Sattar SA, Springthorpe VS, Karim Y, Loro P. 1989. Chemical disinfection of non-porous inanimate surfaces experimentally contaminated with four human pathogenic viruses. *Epidemiol Infect*, 102 (3):493-505.
- Schafer E, Bossmann K. 2005. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 31 (1):53-56.
- Schäfer E. 2001. *Struktur der Pulpa und ihre Erkrankungsformen*. München: Urban & Fischer Verlag.
- Schiller J, Arnhold J, Zachaus A, Arnold K. 1997. Reaction of hypochlorous acid with bovine nasal cartilage comparison to pig articular cartilage. *Z Naturforsch C*, 52 (9-10):694-701.
- Schroeder HE. 2000. *Orale Strukturbiologie*. Stuttgart: Thieme.
- Sedgley C, Buck G, Appelbe O. 2006. Prevalence of *Enterococcus faecalis* at multiple oral sites in endodontic patients using culture and PCR. *J Endod*, 32 (2):104-109.
- Seneviratne CJ, Yip JW, Chang JW, Zhang CF, Samaranayake LP. 2013. Effect of culture media and nutrients on biofilm growth kinetics of laboratory and clinical strains of *Enterococcus faecalis*. *Arch Oral Biol*, 58 (10):1327-1334.
- Serper A, Ozbek M, Calt S. 2004. Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. *J Endod*, 30 (3):180-181.
- Sigusch BW, Kranz S, Klein S, Volpel A, Harazim S, Sanchez S, Watts DC, Jandt KD, Schmidt OG, Guellmar A. 2014. Colonization of *Enterococcus faecalis* in a new SiO/SiO(2)-microtube in vitro model system as a function of tubule diameter. *Dent Mater*, 30 (6):661-668.
- Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. 1996. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod*, 22 (12):674-676.
- Siqueira JF, Jr., Lopes HP. 1999. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J*, 32 (5):361-369.
- Siqueira JF, Jr., Rocas IN. 2004. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97 (1):85-94.

- Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Favieri A, Lima KC. 2000. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod*, 26 (6):331-334.
- Siqueira JF, Jr., Rocas IN, Santos SR, Lima KC, Magalhaes FA, de Uzeda M. 2002. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod*, 28 (3):181-184.
- Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Orstavik D. 2004. In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on *Enterococcus faecalis*. *Eur J Oral Sci*, 112 (4):326-331.
- Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. 1997. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*, 30 (2):91-95.
- Sjogren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G. 1991. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J*, 24 (3):119-125.
- Souto R, Colombo AP. 2008. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Arch Oral Biol*, 53 (2):155-160.
- Spangberg L. 1994. Intracanal medication. 4th Aufl. Baltimore: In: Ingle, JI, Bakland, LK.
- Stralfors A, Thilander H, Bergenholtz A. 1967. Simultaneous inhibition of caries and periodontal disease in hamsterby disinfection, tooth-brushing or phosphate addition. *Arch Oral Biol*, 12 (12):1367-1373.
- Sundqvist G. 1992. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol*, 7 (5):257-262.
- Sundqvist G. 1994. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 78 (4):522-530.
- Talebi M, Asghari Moghadam N, Mamooii Z, Enayati M, Saifi M, Pourshafie MR. 2015. Antibiotic Resistance and Biofilm Formation of *Enterococcus faecalis* in Patient and Environmental Samples. *Jundishapur J Microbiol*, 8 (10):e23349.
- Tirapelli C, Landi F, Ribas JP, Panzeri H, Lara EH. 2010. Evaluating an experimental dentifrice containing chloramine-T: a preliminary study. *Oral Health Prev Dent*, 8 (4):375-381.
- Vahdady A, Pitt Ford TR, Wilson RF. 1993. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. *Endod Dent Traumatol*, 9 (6):243-248.
- van der Meer WJ, Stegenga B. 2004. [Root canal retreatment or surgical apicoectomy?]. *Ned Tijdschr Tandheelkd*, 111 (11):430-434.
- Vankerckhoven V, Huys G, Vancanneyt M, Snauwaert C, Swings J, Klare I, Witte W, Van Autgaerden T, Chapelle S, Lammens C, Goossens H. 2008. Genotypic diversity, antimicrobial resistance, and virulence factors of human isolates and probiotic cultures constituting two intraspecific groups of *Enterococcus faecium* isolates. *Appl Environ Microbiol*, 74 (14):4247-4255.
- Verhaagen B, Boutsoukis C, van der Sluis LW, Versluis M. 2014. Acoustic streaming induced by an ultrasonically oscillating endodontic file. *J Acoust Soc Am*, 135 (4):1717-1730.
- Waltimo TM, Orstavik D, Siren EK, Haapasalo MP. 1999. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J*, 32 (6):421-429.
- Wang DM, Gao XJ, Shen S. 2007. [Comparison of antimicrobial efficacy of four endodontic irrigants using an in vitro model infected by *Enterococcus faecalis*]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 42 (4):223-224.

- Wennberg A. 1980. Biological evaluation of root canal antiseptics using in vitro and in vivo methods. *Scand J Dent Res*, 88 (1):46-52.
- Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc*, 3 (2):163-175.
- Wu MK, Dummer PM, Wesselink PR. 2006. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J*, 39 (5):343-356.
- Zehnder M. 2006. Root canal irrigants. *J Endod*, 32 (5):389-398.
- Zoletti GO, Siqueira JF, Jr., Santos KR. 2006. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. *J Endod*, 32 (8):722-726.

9 Anhang

Tabelle 1 Datenübersicht der Studienzähne Nr. 1-18

Zahn ID	Medikament ID	ISO Größe	KBE	logKBE
Zahn1	1	Baseline	2450000,00	7,39
Zahn1	1	50	5430000,00	6,73
Zahn1	1	60	538000,00	5,73
Zahn1	1	70	263000,00	5,42
Zahn1	1	80	958000,00	5,98
Zahn1	1	90	222000,00	5,35
Zahn1	1	100	717000,00	5,86
Zahn1	1	110	105000,00	5,02
Zahn2	1	Baseline	13700000,00	7,14
Zahn2	1	50	600000,00	5,78
Zahn2	1	60	633000,00	5,80
Zahn2	1	70	93300,00	4,97
Zahn2	1	80	53300,00	4,73
Zahn2	1	90	207000,00	5,32
Zahn2	1	100	800000,00	5,90
Zahn2	1	110	210000,00	5,32
Zahn3	1	Baseline	28600000,00	7,46
Zahn3	1	50	2400000,00	6,38
Zahn3	1	60	1370000,00	6,14
Zahn3	1	70	415000,00	5,62
Zahn3	1	80	235000,00	5,37
Zahn3	1	90	210000,00	5,32
Zahn3	1	100	192000,00	5,28
Zahn3	1	110	39300,00	4,59
Zahn4	1	Baseline	6070000,00	6,78
Zahn4	1	50	792000,00	5,90
Zahn4	1	60	481000,00	5,68
Zahn4	1	70	263000,00	5,42
Zahn4	1	80	109000,00	5,04
Zahn4	1	90	163000,00	5,21
Zahn4	1	100	287000,00	5,46
Zahn4	1	110	116000,00	5,06
Zahn5	1	Baseline	2220000,00	6,35
Zahn5	1	50	4050000,00	6,61
Zahn5	1	60	387000,00	5,59
Zahn5	1	70	122000,00	5,09
Zahn5	1	80	172000,00	5,24
Zahn5	1	90	56000,00	4,75
Zahn5	1	100	157000,00	5,20
Zahn5	1	110	37300,00	4,57
Zahn6	1	Baseline	6670000,00	6,82
Zahn6	1	50	4950000,00	6,69
Zahn6	1	60	683000,00	5,83
Zahn6	1	70	533000,00	5,73
Zahn6	1	80	282000,00	5,45
Zahn6	1	90	87100,00	4,94
Zahn6	1	100	68700,00	4,84
Zahn6	1	110	377000,00	5,58
Zahn7	1	Baseline	31100000,00	7,49
Zahn7	1	50	8600000,00	6,93
Zahn7	1	60	629000,00	5,80
Zahn7	1	70	1570000,00	6,20
Zahn7	1	80	880000,00	5,94
Zahn7	1	90	202000,00	5,31
Zahn7	1	100	335000,00	5,53
Zahn7	1	110	59900,00	4,78
Zahn8	1	Baseline	18000000,00	7,26
Zahn8	1	50	3840000,00	6,58
Zahn8	1	60	389000,00	5,59
Zahn8	1	70	588000,00	5,77
Zahn8	1	80	521000,00	5,72
Zahn8	1	90	232000,00	5,37
Zahn8	1	100	592000,00	5,77
Zahn8	1	110	1110000,00	6,05
Zahn9	1	Baseline	53700000,00	7,73
Zahn9	1	50	2070000,00	6,32
Zahn9	1	60	557000,00	5,75
Zahn9	1	70	162000,00	5,21
Zahn9	1	80	146000,00	5,16
Zahn9	1	90	81800,00	4,91
Zahn9	1	100	138000,00	5,14
Zahn9	1	110	130000,00	5,11

Zahn ID	Medikament ID	ISO Größe	KBE	logKBE
Zahn10	1	Baseline	5440000,00	6,74
Zahn10	1	50	40400000,00	7,61
Zahn10	1	60	1490000,00	6,17
Zahn10	1	70	1290000,00	6,11
Zahn10	1	80	242000,00	5,38
Zahn10	1	90	280000,00	5,45
Zahn10	1	100	283000,00	5,45
Zahn10	1	110	156000,00	5,19
Zahn11	2	Baseline	1280000,00	6,11
Zahn11	2	50	5230,00	3,72
Zahn11	2	60	777000,00	5,89
Zahn11	2	70	343000,00	5,54
Zahn11	2	80	1370000,00	6,14
Zahn11	2	90	1570000,00	6,20
Zahn11	2	100	933000,00	5,97
Zahn11	2	110	57700,00	4,76
Zahn12	2	Baseline	18500000,00	7,27
Zahn12	2	50	482000,00	5,68
Zahn12	2	60	1520000,00	6,18
Zahn12	2	70	518000,00	5,71
Zahn12	2	80	673000,00	5,83
Zahn12	2	90	325000,00	5,51
Zahn12	2	100	293000,00	5,47
Zahn12	2	110	260000,00	5,41
Zahn13	2	Baseline	467000,00	5,67
Zahn13	2	50	240000,00	5,38
Zahn13	2	60	47300,00	4,67
Zahn13	2	70	103000,00	5,01
Zahn13	2	80	26500,00	4,42
Zahn13	2	90	933,00	2,97
Zahn13	2	100	1670,00	3,22
Zahn13	2	110	933,00	2,97
Zahn14	2	Baseline	692000,00	5,84
Zahn14	2	50	500,00	2,70
Zahn14	2	60	8470,00	3,93
Zahn14	2	70	29800,00	4,47
Zahn14	2	80	7030,00	3,85
Zahn14	2	90	533,00	2,73
Zahn14	2	100	17200,00	4,24
Zahn14	2	110	1550,00	3,19
Zahn15	2	Baseline	18200000,00	7,26
Zahn15	2	50	34500,00	4,54
Zahn15	2	60	717000,00	5,86
Zahn15	2	70	578000,00	5,76
Zahn15	2	80	963000,00	5,98
Zahn15	2	90	800000,00	5,90
Zahn15	2	100	677000,00	5,83
Zahn15	2	110	105000,00	5,02
Zahn16	2	Baseline	29200000,00	7,47
Zahn16	2	50	,00	
Zahn16	2	60	9980,00	4,00
Zahn16	2	70	7300,00	3,86
Zahn16	2	80	22800,00	4,36
Zahn16	2	90	21700,00	4,34
Zahn16	2	100	1930,00	3,29
Zahn16	2	110	22200,00	4,35
Zahn17	2	Baseline	72300000,00	7,86
Zahn17	2	50	533,00	2,73
Zahn17	2	60	74300,00	4,87
Zahn17	2	70	203000,00	5,31
Zahn17	2	80	173000,00	5,24
Zahn17	2	90	267000,00	5,43
Zahn17	2	100	31000,00	4,49
Zahn17	2	110	31000,00	4,49
Zahn18	2	Baseline	2800000,00	6,45
Zahn18	2	50	,00	
Zahn18	2	60	,00	
Zahn18	2	70	967,00	2,99
Zahn18	2	80	,00	
Zahn18	2	90	2230,00	3,35
Zahn18	2	100	133,00	2,12
Zahn18	2	110	4070,00	3,61

Tabelle 2 Datenübersicht der Studienzähne Nr. 19-36

Zahn ID	Medikament ID	ISO Größe	KBE	logKBE
Zahn19	2	Baseline	9300000,00	6,97
Zahn19	2	50	1070,00	3,03
Zahn19	2	60	7970,00	3,90
Zahn19	2	70	22000,00	4,34
Zahn19	2	80	6800,00	3,83
Zahn19	2	90	8470,00	3,93
Zahn19	2	100	95700,00	4,98
Zahn19	2	110	8880,00	3,95
Zahn20	2	Baseline	71800000,00	7,86
Zahn20	2	50	26500,00	4,42
Zahn20	2	60	510000,00	5,71
Zahn20	2	70	287000,00	5,46
Zahn20	2	80	357000,00	5,55
Zahn20	2	90	333000,00	5,52
Zahn20	2	100	333000,00	5,52
Zahn20	2	110	273000,00	5,44
Zahn21	3	Baseline	13700000,00	7,14
Zahn21	3	50	,00	
Zahn21	3	60	1720,00	3,24
Zahn21	3	70	1950,00	3,29
Zahn21	3	80	6510,00	3,81
Zahn21	3	90	5090,00	3,71
Zahn21	3	100	11000,00	4,04
Zahn21	3	110	21500,00	4,33
Zahn22	3	Baseline	3660000,00	6,56
Zahn22	3	50	100,00	2,00
Zahn22	3	60	24500,00	4,39
Zahn22	3	70	13700,00	4,14
Zahn22	3	80	45400,00	4,66
Zahn22	3	90	6390,00	3,81
Zahn22	3	100	13200,00	4,12
Zahn22	3	110	85200,00	4,93
Zahn23	3	Baseline	29000000,00	7,46
Zahn23	3	50	20300,00	4,31
Zahn23	3	60	3420,00	3,53
Zahn23	3	70	3000,00	3,48
Zahn23	3	80	550,00	2,74
Zahn23	3	90	59500,00	4,77
Zahn23	3	100	268000,00	5,43
Zahn23	3	110	686000,00	5,84
Zahn24	3	Baseline	3070000,00	6,49
Zahn24	3	50	33,30	1,52
Zahn24	3	60	233,00	2,37
Zahn24	3	70	1280,00	3,11
Zahn24	3	80	66,70	1,82
Zahn24	3	90	1580,00	3,20
Zahn24	3	100	2900,00	3,46
Zahn24	3	110	5800,00	3,76
Zahn25	3	Baseline	4820000,00	6,68
Zahn25	3	50	33,30	1,52
Zahn25	3	60	3670,00	3,56
Zahn25	3	70	12000,00	4,08
Zahn25	3	80	19700,00	4,29
Zahn25	3	90	34200,00	4,53
Zahn25	3	100	933,00	2,97
Zahn25	3	110	667,00	2,82
Zahn26	3	Baseline	23200000,00	7,37
Zahn26	3	50	1720,00	3,24
Zahn26	3	60	1720,00	3,24
Zahn26	3	70	36700,00	4,56
Zahn26	3	80	48500,00	4,69
Zahn26	3	90	29000,00	4,46
Zahn26	3	100	1430,00	3,16
Zahn26	3	110	6330,00	3,80
Zahn27	3	Baseline	16500000,00	7,22
Zahn27	3	50	,00	
Zahn27	3	60	38500,00	4,59
Zahn27	3	70	1100,00	3,04
Zahn27	3	80	,00	
Zahn27	3	90	28500,00	4,45
Zahn27	3	100	1350,00	3,13
Zahn27	3	110	267,00	2,43

Zahn ID	Medikament ID	ISO Größe	KBE	logKBE
Zahn28	3	Baseline	683000,00	5,83
Zahn28	3	50	,00	
Zahn28	3	60	48300,00	4,68
Zahn28	3	70	49300,00	4,69
Zahn28	3	80	72700,00	4,86
Zahn28	3	90	40200,00	4,60
Zahn28	3	100	37000,00	4,57
Zahn28	3	110	56300,00	4,75
Zahn29	3	Baseline	72000000,00	7,86
Zahn29	3	50	5250,00	3,72
Zahn29	3	60	34300,00	4,54
Zahn29	3	70	270000,00	5,43
Zahn29	3	80	453000,00	5,66
Zahn29	3	90	207000,00	5,32
Zahn29	3	100	263000,00	5,42
Zahn29	3	110	227000,00	5,36
Zahn30	3	Baseline	22000000,00	7,34
Zahn30	3	50	2870,00	3,46
Zahn30	3	60	560000,00	5,75
Zahn30	3	70	560000,00	5,75
Zahn30	3	80	553000,00	5,74
Zahn30	3	90	253000,00	5,40
Zahn30	3	100	82000,00	4,91
Zahn30	3	110	48700,00	4,69
Zahn31	4	Baseline	9030000,00	6,96
Zahn31	4	50	,00	
Zahn31	4	60	,00	
Zahn31	4	70	,00	,00
Zahn31	4	80	,00	
Zahn31	4	90	,00	
Zahn31	4	100	,00	
Zahn31	4	110	,00	
Zahn32	4	Baseline	12800000,00	7,11
Zahn32	4	50	,00	
Zahn32	4	60	,00	
Zahn32	4	70	,00	
Zahn32	4	80	,00	
Zahn32	4	90	,00	
Zahn32	4	100	,00	
Zahn32	4	110	,00	
Zahn33	4	Baseline	16700000,00	7,22
Zahn33	4	50	,00	
Zahn33	4	60	,00	
Zahn33	4	70	,00	
Zahn33	4	80	,00	
Zahn33	4	90	,00	
Zahn33	4	100	,00	
Zahn33	4	110	,00	
Zahn34	4	Baseline	29300000,00	7,47
Zahn34	4	50	,00	
Zahn34	4	60	,00	
Zahn34	4	70	,00	
Zahn34	4	80	,00	
Zahn34	4	90	,00	
Zahn34	4	100	,00	
Zahn34	4	110	,00	
Zahn35	4	Baseline	3120000,00	6,49
Zahn35	4	50	,00	
Zahn35	4	60	,00	
Zahn35	4	70	,00	
Zahn35	4	80	,00	
Zahn35	4	90	,00	
Zahn35	4	100	,00	
Zahn35	4	110	,00	
Zahn36	4	Baseline	19700000,00	7,29
Zahn36	4	50	,00	
Zahn36	4	60	,00	
Zahn36	4	70	,00	
Zahn36	4	80	,00	
Zahn36	4	90	,00	
Zahn36	4	100	,00	
Zahn36	4	110	,00	

Tabelle 3 Datenübersicht der Studienzähne Nr. 37-50

Zahn ID	Medikament ID	ISO Größe	KBE	logKBE
Zahn37	4	Baseline	1680000,00	6,23
Zahn37	4	50	,00	
Zahn37	4	60	,00	
Zahn37	4	70	,00	
Zahn37	4	80	,00	
Zahn37	4	90	,00	
Zahn37	4	100	,00	
Zahn37	4	110	,00	
Zahn38	4	Baseline	16700000,00	7,22
Zahn38	4	50	,00	
Zahn38	4	60	,00	
Zahn38	4	70	,00	
Zahn38	4	80	,00	
Zahn38	4	90	,00	
Zahn38	4	100	,00	
Zahn38	4	110	,00	
Zahn39	4	Baseline	717000,00	5,86
Zahn39	4	50	,00	
Zahn39	4	60	,00	
Zahn39	4	70	,00	
Zahn39	4	80	,00	
Zahn39	4	90	,00	
Zahn39	4	100	,00	
Zahn39	4	110	,00	
Zahn40	4	Baseline	8670000,00	6,94
Zahn40	4	50	,00	
Zahn40	4	60	,00	
Zahn40	4	70	,00	
Zahn40	4	80	,00	
Zahn40	4	90	,00	
Zahn40	4	100	,00	
Zahn40	4	110	,00	
Zahn41	5	Baseline	10400000,00	7,02
Zahn41	5	50	,00	
Zahn41	5	60	,00	
Zahn41	5	70	500,00	2,70
Zahn41	5	80	300,00	2,48
Zahn41	5	90	9200,00	3,96
Zahn41	5	100	111000,00	5,05
Zahn41	5	110	157000,00	5,20
Zahn42	5	Baseline	5500000,00	6,74
Zahn42	5	50	,00	
Zahn42	5	60	,00	
Zahn42	5	70	60,00	1,78
Zahn42	5	80	50,00	1,70
Zahn42	5	90	405,00	2,61
Zahn42	5	100	270,00	2,43
Zahn42	5	110	13000,00	4,11
Zahn43	5	Baseline	9500000,00	6,98
Zahn43	5	50	,00	
Zahn43	5	60	500,00	2,70
Zahn43	5	70	1300,00	3,11
Zahn43	5	80	17300,00	4,24
Zahn43	5	90	34700,00	4,54
Zahn43	5	100	25500,00	4,41
Zahn43	5	110	8000,00	3,90

Zahn ID	Medikament ID	ISO Größe	KBE	logKBE
Zahn44	5	Baseline	22000000,00	7,34
Zahn44	5	50	,00	
Zahn44	5	60	2800,00	3,45
Zahn44	5	70	200,00	2,30
Zahn44	5	80	1580,00	3,20
Zahn44	5	90	2550,00	3,41
Zahn44	5	100	144000,00	5,16
Zahn44	5	110	1320000,00	6,12
Zahn45	5	Baseline	45500000,00	7,66
Zahn45	5	50	,00	
Zahn45	5	60	,00	
Zahn45	5	70	,00	
Zahn45	5	80	210,00	2,32
Zahn45	5	90	,00	
Zahn45	5	100	16400,00	4,21
Zahn45	5	110	171000,00	5,23
Zahn46	5	Baseline	116000000,00	8,06
Zahn46	5	50	,00	
Zahn46	5	60	200,00	2,30
Zahn46	5	70	255,00	2,41
Zahn46	5	80	75,00	1,88
Zahn46	5	90	235,00	2,37
Zahn46	5	100	70,00	1,85
Zahn46	5	110	550,00	2,74
Zahn47	5	Baseline	13800000,00	7,14
Zahn47	5	50	,00	
Zahn47	5	60	185,00	2,27
Zahn47	5	70	13100,00	4,12
Zahn47	5	80	1740,00	3,24
Zahn47	5	90	1850,00	3,27
Zahn47	5	100	9070,00	3,96
Zahn47	5	110	4450,00	3,65
Zahn48	5	Baseline	45800000,00	7,66
Zahn48	5	50	,00	
Zahn48	5	60	,00	
Zahn48	5	70	,00	
Zahn48	5	80	50500,00	4,70
Zahn48	5	90	1950,00	3,29
Zahn48	5	100	1040,00	3,02
Zahn48	5	110	40600,00	4,61
Zahn49	5	Baseline	167000000,00	8,22
Zahn49	5	50	,00	
Zahn49	5	60	,00	
Zahn49	5	70	1630,00	3,21
Zahn49	5	80	14600,00	4,16
Zahn49	5	90	19200,00	4,28
Zahn49	5	100	3450,00	3,54
Zahn49	5	110	16900,00	4,23
Zahn50	5	Baseline	12000000,00	7,08
Zahn50	5	50	,00	
Zahn50	5	60	85,00	1,93
Zahn50	5	70	76500,00	4,88
Zahn50	5	80	3700,00	3,57
Zahn50	5	90	18000,00	4,26
Zahn50	5	100	160000,00	5,20
Zahn50	5	110	1330000,00	6,12

Legende Tabellen 1-3

Medikament-ID:	1	- NaCl
	2	- Chloramin-T an Papierspitze
	3	- Kalziumhydroxid
	4	- Chloramin-T Auffüllung
	5	- NaOCl

Tabelle 4 Statistische Analyse

Auswertung t-Test NaCl und Chloramin-Papierspitze

Reihenfolge entsprechend der P-Werte	α -Fehlerwahrscheinlichkeit	P-Wert	Signifikanz
Kanalwand	0.007	0	ja
ISO-Größe 60	0.008	0.016	nein
ISO-Größe 110	0.01	0.018	nein
ISO-Größe 70	0.0125	0.038	nein
ISO-Größe 100	0.017	0.041	nein
ISO-Größe 90	0.025	0.161	nein
ISO-Größe 80	0.05	0.25	nein

Auswertung t-Test NaCl und Kalziumhydroxid

Reihenfolge entsprechend der P-Werte	α -Fehlerwahrscheinlichkeit	P-Wert	Signifikanz
Kanalwand	0.007	0	ja
ISO-Größe 60	0.008	0	ja
ISO-Größe 70	0.01	0	ja
ISO-Größe 80	0.0125	0	ja
ISO-Größe 90	0.017	0.004	ja
ISO-Größe 100	0.025	0.001	ja
ISO-Größe 110	0.05	0.032	ja

Auswertung t-Test Chloramin-Papierspitze und Kalziumhydroxid

Reihenfolge entsprechend der P-Werte	α -Fehlerwahrscheinlichkeit	P-Wert	Signifikanz
ISO-Größe 60	0.007	0.033	nein
Kanalwand	0.008	0.065	nein
ISO-Größe 70	0.01	0.116	nein
ISO-Größe 80	0.0125	0.164	nein
ISO-Größe 100	0.017	0.447	nein
ISO-Größe 90	0.025	0.731	nein
ISO-Größe 110	0.05	0.914	nein

Auswertung t-Test NaCl und NaOCl

Reihenfolge entsprechend der P-Werte	α -Fehlerwahrscheinlichkeit	P-Wert	Signifikanz
Kanalwand	0.007	0	ja
ISO-Größe 60	0.008	0	ja
ISO-Größe 70	0.01	0	ja
ISO-Größe 80	0.0125	0	ja
ISO-Größe 90	0.017	0	ja
ISO-Größe 100	0.025	0.001	ja
ISO-Größe 110	0.05	0.166	nein

Auswertung t-Test NaOCl und Chloramin-Papierspitze

Reihenfolge entsprechend der P-Werte	α -Fehlerwahrscheinlichkeit	P-Wert	Signifikanz
Kanalwand	0.007	0	ja
ISO-Größe 60	0.008	0	ja
ISO-Größe 70	0.01	0.001	ja
ISO-Größe 80	0.0125	0.001	ja
ISO-Größe 90	0.017	0.051	nein
ISO-Größe 100	0.025	0.267	nein
ISO-Größe 110	0.05	0.545	nein

Auswertung t-Test NaOCl und Kalziumhydroxid

Reihenfolge entsprechend der P-Werte	α -Fehlerwahrscheinlichkeit	P-Wert	Signifikanz
Kanalwand	0.007	0	nein
ISO-Größe 60	0.008	0.009	nein
ISO-Größe 90	0.01	0.018	nein
ISO-Größe 70	0.0125	0.032	nein
ISO-Größe 80	0.017	0.054	nein
ISO-Größe 110	0.025	0.516	nein
ISO-Größe 100	0.05	0.621	nein

Tabelle 5 Gegenüberstellung der Median-Werte der Test- und Kontrollgruppen

ISO- Größe	Chloramin-T- Auffüllung (KBE)	Chloramin-T an Papierspitze (KBE)	Kalziumhydroxid (KBE)	NaOCl (KBE)	NaCl (KBE)
Baseline	109150000	13750000	15100000	17900000	15850000
50	0	15865	1720	0	3945000
60	0	74300	14085	200	593000
70	0	153000	12850	900	339000
80	0	1730000	45400	1660	238500
90	0	144350	31600	2550	204500
100	0	63350	12100	12735	285000
110	0	26600	35100	28750	123000

Danksagung

Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. Bernd W. Sigusch möchte ich an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die Unterstützung und die fachliche Beratung bei der Erstellung der Arbeit danken.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. A. Güllmar, der mich durch seine geduldige Betreuung sehr unterstützt hat. Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. S. Kranz für seine wertvollen Tipps während des Entstehungsprozesses dieser Promotion.

Mein Dank gilt außerdem den Mitarbeitern des Oral-Biologischen Forschungslaboratoriums der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie des Universitätsklinikums Jena Frau Dipl.-Ing. A. Völpel und Frau S. Tonndorf-Martini für die kompetente Unterstützung beim Umgang mit den verwendeten Geräten und Materialien im Labor und bei der Versuchsdurchführung.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie für die stetige und aufbauende Unterstützung. Meinem Freund, Herrn Dr. F. Wittstock, danke ich für sein Verständnis, seine Unterstützung und seine Motivation.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Herr Univ.-Prof. Dr. Dr. Bernd W. Sigusch, Herr Dr. A. Güllmar, Herr Dr. S. Kranz, Frau Dipl.-Ing. A. Völpel, Herr Dr. M. Walther, Frau S. Tonndorf-Martini

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 04.10.2017

Franziska Maria Bräutigam

Lebenslauf

